



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

MARCADORES INCLUYENTES Y EXCLUYENTES EN CANCER PULMONAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

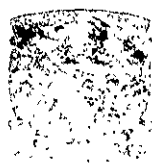
P R E S E N T A

AIDA SUSANA ROMERO GARCIA

288461



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES FAC. DE QUIMICA

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICO ESTE TRABAJO,

A mi mamá, Felicitas García Pineda, por su valioso ejemplo y amor incondicional.

A mi papá, Gilberto Romero Iglesias (†), por su hermoso recuerdo.

A mi hermanos, Luisa Edith, Roberto y Gerardo, por su apoyo, por la infancia y porque los quiero.

A mis sobrinos, Angie, Berenice, Claudia, Sergio, Dafne, Marco y Gerardo, por la esperanza y la inocencia.

A mis cuñadas y cuñado, Soledad, Marcos y Guadalupe, por la solidaridad en momentos difíciles.

A Heriberto Prado a quien debo un mol de olas de mar.

A mis amigas Eva Basurto, Ariadna Garza, Dolores Aguilar, Amelia López y Leticia López, porque en ellas la palabra amiga encuentra su significado.

A mis amigos Ulises Morales, Arnoldo Aquino, Miguel Molina, Alejandro Nieto y Federico Ávila.

AGRADEZCO,

A Dios, la vida y su benevolencia para conmigo.

Al Dr. José Sullivan López González, su dirección en la realización de este trabajo, su apoyo, confianza y amistad.

Al Laboratorio Clínico del INER por el apoyo en el procesamiento de algunas muestras.

A todos mis profesores en la Facultad de Química, por compartirme sus conocimientos.

ÍNDICE

<i>ABREVIATURAS</i>	3
1. INTRODUCCIÓN	4
1.1 CÁNCER	4
1.2 CÁNCER PULMONAR	5
1.3 EPIDEMIOLOGÍA	6
1.4 FACTORES RELACIONADOS CON EL CÁNCER PULMONAR	6
1.5 HISTOLOGÍA	8
1.6 PLEURA	10
1.7 DERRAME PLEURAL	11
1.8 DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER PULMONAR	13
1.9 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	15
2. ANTECEDENTES	20
2.1 MARCADORES NO TUMORALES	20
2.2 ADENOSINA DESAMINASA	20
2.3 MARCADORES TUMORALES	23
2.4 APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS MARCADORES TUMORALES	25
2.5 ANTÍGENO CARCINOEMBRIÓNARIO	26
2.6 CYFRA 21-1	28
2.7 CEA Y CYFRA 21-1	31
3. JUSTIFICACIÓN	33
4. OBJETIVOS	35
5. HIPÓTESIS	36
6. MATERIALES Y MÉTODOS	37
6.1 MATERIAL BIOLÓGICO	37
6.2 DETERMINACIÓN DE CYFRA 21-1	37
6.3 DETERMINACIÓN DE CEA	39
6.4 DETERMINACIÓN DE LA ADENOSINA DESAMINASA	42
6.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	42
7. RESULTADOS	44
7.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA	44
7.1.1 ADA	44
7.1.2 CEA	44
7.1.3 CYFRA 21-1	45
7.1.4 CORRELACIÓN ENTRE CYFRA 21-1, CEA Y ADA	46

7.1.5 RELACIÓN ENTRE TIPOS HISTOLÓGICOS	46
7.2 PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS	47
7.2.1 ADA	47
7.2.2 CEA	47
7.2.3 CYFRA 21-1	48
7.3 PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS PARA PRUEBAS MÚLTIPLES	49
7.3.1 ASOCIACIÓN ENTRE DOS MARCADORES	49
7.3.2 ASOCIACIÓN ENTRE TRES MARCADORES	54
7.3.3 UNIÓN DE ASOCIACIONES	58
7.4 TABLAS	60
7.5 FIGURAS	65
8. DISCUSIÓN	69
9. CONCLUSIONES	77
10. BIBLIOGRAFÍA	78
APÉNDICE I	84
APÉNDICE II	85
APÉNDICE III	86

ABREVIATURAS

ADA	Adenosina desaminasa
CEA	Antígeno carcinoembrionario
Cyfra 21-1	Citoqueratina 19
ELFA	Ensayo inmunofluorescente unido a enzima
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente unido a enzima
IDSC	Inmunodeficiencia severa combinada
LDH	Lactato deshidrogenasa
MT	Marcador tumoral
NSCLC	Cáncer pulmonar de células no pequeñas
NSE	Enolasa neurón-específica
PD	Parámetros diagnósticos
POD	Peroxidasa
ROC	Curva característica del operador-receptor
SCLC	Cáncer pulmonar de células pequeñas
TNM	Tumor ganglio metástasis
VC	Valor de corte
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CÁNCER

En un individuo todas sus células mantienen una compleja interdependencia, regulando mutuamente su proliferación, según lo requiera la economía del organismo. Esto asegura que el tejido mantenga el tamaño y la arquitectura apropiados para su correcto funcionamiento¹.

En un tejido normal, existen señales estimuladoras de crecimiento secretadas por células, las cuales se unen a receptores específicos en la superficie de las células cercanas. Esta interacción inicia una cadena de señales de transducción (río abajo) que llegan al núcleo. Dentro del núcleo, proteínas conocidas como factores de transcripción regulan la expresión de genes que permiten la continuidad del ciclo de crecimiento¹.

La transformación maligna de una célula viene tras la acumulación de mutaciones en genes específicos, mismos que en la célula normal regulan el ciclo celular. Estas mutaciones pueden ser inducidas por agentes genotóxicos¹.

Los genes que juegan un papel trascendente en la generación del cáncer son llamados oncogenes. Hay dos clases de oncogenes, oncogenes dominantes y oncogenes recesivos o genes supresores de tumor. Los oncogenes se derivan de genes celulares normales llamados proto-oncogenes. El producto codificado por un proto-oncogen frecuentemente es importante en la regulación del crecimiento celular. Los proto-oncogenes pueden ser activados por mutación, translocación cromosómica, amplificación (duplicación del gen varias veces en el genoma) o desregulación transcripcional, resultando en la producción de una proteína anormal o una proteína normal en abundancia. A los proto-oncogenes activados (mutados) se les llama oncogenes y a sus productos proteicos oncoproteínas².

Los oncogenes dominantes pueden provocar que las proteínas estimuladoras de la división celular estén activas indefinidamente, resultando en proliferación celular excesiva. Por otro lado, los oncogenes recesivos (genes supresores) pueden ocasionar que las proteínas que

inhiben la división celular estén inactivas, privando a las células de restricciones necesarias en la regulación de su proliferación².

Los proto-oncogenes se agrupan dentro de las siguientes categorías²:

1. Genes para factores de crecimiento y sus receptores.
2. Genes para receptores de factores de crecimiento.
3. Genes para transductores de señales intracelulares.
4. Genes para factores de transcripción que activan genes promotores de crecimiento.
5. Genes para proteínas que intervienen en el control del ciclo celular.

El desarrollo del cáncer comprende una serie de cambios genéticos y moleculares en células normales que dan como resultado la proliferación de nuevas estirpes celulares que controlan su propia proliferación. Antes de que el tejido adquiera características malignas debe presentar lesiones precancerosas, es decir, cambios histológicos bien definidos que incrementan el riesgo del desarrollo de malignidad; estos eventos pueden ser reversibles, pues se ha encontrado que no todas las lesiones progresan a carcinoma ya que con frecuencia desaparecen espontáneamente³.

Las células cancerosas requieren del desarrollo de ciertos eventos para que proliferen exitosamente, entre los que se encuentran: a) el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) destinados a proveer nutrientes a las células tumorales y b) la evasión de señales inhibitorias del crecimiento, enviadas por células vecinas para intentar mantener bajo control el tamaño de la población. Además adquieren: a) la habilidad de invadir tejidos cercanos y b) la capacidad de producir metástasis³.

1.2 CÁNCER PULMONAR

El cáncer pulmonar es la manifestación fenotípica de la acumulación de cambios genéticos y moleculares, involucrando la activación de proto-oncogenes dominantes y la inactivación de genes supresores de tumor en células epiteliales pulmonares que resultan en una proliferación celular sin restricción².

El cáncer de pulmón es una de las neoplasias más insidiosas y agresivas, es más frecuente en el sexo masculino, aunque la incidencia en mujeres está aumentando. La edad más frecuente para su desarrollo y detección clínica es entre los 40 y 70 años. La sintomatología se presenta, por lo regular en etapas avanzadas de la enfermedad y comprende: tos (75%), pérdida de peso (40%) y disnea (20%). Pese a todos los esfuerzos de diagnóstico mediante el estudio radiológico del tórax, citología de esputo, lavado o cepillado bronquial y los avances de la cirugía torácica, radioterapia y quimioterapia, la supervivencia global a 5 años es del 9 %. La supervivencia media tras el diagnóstico es aproximadamente de un año^{2,4}.

1.3 EPIDEMIOLOGÍA

En México, los carcinomas malignos representan la segunda causa de mortalidad, después de las enfermedades cardiovasculares⁵.

El tumor maligno de órganos respiratorios e intratorácicos y el tumor maligno de la tráquea, de los bronquios y del pulmón ocuparon el quinto y el noveno lugar dentro de los veinte tumores más frecuentes causantes de defunciones hospitalarias en México, durante el año de 1996; en el sexo masculino ocuparon el cuarto y el séptimo lugar, mientras que para el sexo femenino ocuparon el doceavo y treceavo lugar durante ese mismo año⁵.

En 1996, en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, el tumor maligno de la tráquea, de los bronquios y del pulmón constituyó la cuarta causa más frecuente de consulta y de hospitalización (306 casos internados); lamentablemente, la mayoría de los que acuden al Instituto se encuentran en etapas avanzadas (IIIb o IV), por lo que se encuentran fuera de posibilidades quirúrgicas en el momento en que solicitan la primera atención. Esto se debe al tiempo que tarda en presentarse la sintomatología y al tiempo que tarda el enfermo en acudir al médico⁵.

1.4 FACTORES RELACIONADOS CON EL CÁNCER PULMONAR

Hábito tabáquico. El hábito tabáquico es el principal factor de riesgo asociado con el cáncer pulmonar. El humo del cigarro contiene agentes carcinogénicos, que incluyen

aldehídos volátiles, hidrocarburos aromáticos policíclicos, aminas aromáticas y N-nitrosaminas tabaco-específicas (TSNA)^{2,6}.

Dentro de los factores que influyen en el riesgo de desarrollar cáncer pulmonar en fumadores, se encuentran: la duración del hábito de fumar, la cuantía de lo que se fuma diariamente, el tipo de cigarros que se fuma y la edad a la que se empezó a fumar. Se ha observado que el uso de boquillas con filtros en los cigarros y el tipo de tabaco pueden ayudar a explicar el decremento relativo del carcinoma de células escamosas y el incremento absoluto del adenocarcinoma, ya que algunos filtros remueven selectivamente carcinógenos volátiles del humo tales como N-nitrosaminas, ácido cianhídrico y ciertos aldehídos volátiles que afectan al sistema mucociliar del pulmón^{2,6}.

El 20% de las mujeres que desarrollan cáncer pulmonar son fumadoras pasivas. El humo directo, es decir, el que no pasa a través de filtros de cigarros, contiene cerca de 100 veces más la cantidad de carcinógenos del humo filtrado^{2,6}.

Predisposición para el cáncer de pulmón. Los carcinógenos del humo del tabaco son activados enzimáticamente a electrófilos que forman aductos DNA-carcinógeno. Las enzimas detoxificantes compiten con las enzimas activantes en el metabolismo de los componentes procarcinogénicos del humo. Se conoce que existen variaciones persona a persona en estos dos tipos de reacciones enzimáticas, tanto en la reparación del daño causado al DNA por carcinógenos del tabaco como en la activación de procarcinógenos^{2,6}.

Enfermedad pulmonar previa. La incidencia de cáncer pulmonar aumenta en pacientes con otras enfermedades del pulmón, tales como tuberculosis, bronquitis crónica o silicosis. El hábito tabáquico crónico retarda las secreciones del tracto respiratorio y el aclaramiento mucociliar de partículas extrañas, lo que lleva a una respuesta inflamatoria acompañada por fibrosis y adelgazamiento de membranas y bronquiolos^{2,6}.

Otros factores de riesgo posibles. También se ha relacionado al cáncer pulmonar con la exposición a carcinógenos presentes en oficios, profesiones o medio ambiente, como son la minería (radón), la metalurgia (cromio, níquel), procesos industriales tales como la manufactura de pinturas, pigmentos inorgánicos, hule sintético, entre otros; actuando solos

o potenciados por el humo del tabaco. La asociación de tabaquismo y exposición a asbesto es particularmente peligrosa, pues el riesgo de presentar carcinoma broncogénico es 90 veces mayor que el de una persona no fumadora y no expuesta al asbesto. En México, un factor asociado al incremento de cáncer pulmonar en mujeres no fumadoras es el humo de leña, al cual se exponen de manera pasiva al usar esta fuente de combustible en su cocina (en la preparación de los alimentos)^{2,4}.

1.5 HISTOLOGÍA

La Organización Mundial de la Salud (WHO) divide en dos grandes grupos al cáncer de pulmón: el cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) y el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), dicha división se basa en el origen de ambos tipos de cáncer, pues mientras el SCLC tiene un origen neuronal, el NSCLC tiene orígenes diferentes al neuronal. Esta diferencia repercute directamente en el tipo de tratamiento al que el paciente se someterá².

El NSCLC agrupa al carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma y carcinoma de células grandes. Además, este grupo constituye el 70% de todos los cánceres de pulmón².

1.5.1 ADENOCARCINOMA

La frecuencia aproximada de este carcinoma es del 35% entre los cánceres de pulmón. El adenocarcinoma es el subtipo más frecuentemente diagnosticado en mujeres y la sobrevida a 5 años es del 11%. Este tipo histológico se presenta tanto en fumadores como en no fumadores. Su desarrollo es predominantemente periférico. Casos bien documentados de adenocarcinoma han ocurrido en pacientes con fibrosis pulmonar difusa, cicatrices de infartos, tuberculosis y otros granulomas. Esta forma de cáncer de pulmón metastatiza con facilidad a la pleura. Los criterios histológicos para su diagnóstico comprenden presencia de células productoras de moco, estructuras glanduliformes o papilares y vacuolas citoplasmáticas con moco. La clasificación histológica de la WHO reconoce cuatro patrones histológicos diferentes de adenocarcinoma pulmonar: el acinar, el papilar, el bronquioalveolar y el sólido^{2,7}.

1.5.2 CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS

Aproximadamente el 27% de todos los casos de cáncer de pulmón son carcinomas de células escamosas. Este tipo histológico correlaciona fuertemente con el hábito tabáquico. La sobrevida a 5 años es del 17%. Tiene un predominio masculino, aunque la incidencia entre las mujeres está incrementando con relación al aumento de mujeres fumadoras⁸. Cerca del 66% de estos carcinomas ocurren centralmente, involucrando los bronquios mayores y medianos. Por su patrón de crecimiento, este carcinoma está acompañado frecuentemente de obstrucción bronquial. La diferenciación escamosa está definida por queratinización o la presencia de puentes intercelulares^{2,7}.

1.5.3 CARCINOMA DE CÉLULAS GRANDES

La incidencia aproximada de este tipo histológico es del 16% y la sobrevida a 5 años es del 11%. Su localización es periférica y tiene riesgo moderado de producir metástasis. Se presenta como un carcinoma sólido formado por células grandes (20µm o más), poligonales con núcleos grandes y citoplasma abundante. Su diagnóstico es por exclusión, y se considera que son formas muy desdiferenciadas de carcinomas epidermoides y adenocarcinomas, que no pueden ya identificarse como tales^{2,7}.

1.5.4 CARCINOMA DE CÉLULAS PEQUEÑAS

Constituye aproximadamente el 22% de los carcinomas pulmonares. Afecta predominantemente a hombres y la sobrevida a los 5 años es del 4%. Estos tumores tienen una fuerte relación con el tabaco, la mayoría son hiliares o centrales, son los tumores pulmonares más agresivos, metastatizan rápidamente y son prácticamente incurables quirúrgicamente. Al momento del diagnóstico, más del 80% tiene extensión extratorácica. Es un tumor de alto grado de malignidad, formado por células de tamaño pequeño, escaso citoplasma y de forma redondeada u oval, ocasionalmente de aspecto linfocitario, ésta es la

- clásica “oat cell” o célula en grano de avena. Los carcinomas de células pequeñas presentan gránulos densos de neurosecreción. La capacidad de algunos de estos tumores de secretar hormonas polipeptídicas y la presencia de marcadores neuroendócrinos en el estudio histoquímico como enolasa neurón-específica y otros productos de actividad hormonal, sugieren que este tumor deriva de células de revestimiento bronquial con programación neuroendócrina^{2,7}.

1.6 PLEURA

La pleura se origina del mesodermo, formada por una capa visceral y otra parietal recubre por completo al pulmón. La pleura visceral se adhiere a la superficie pulmonar, incluyendo las fisuras entre lóbulos; mientras que la pleural parietal recubre la superficie interior de la pared torácica y la cara superior del diafragma, se pliega alrededor del mediastino y se une a la visceral en el hilio^{9,10,11}.

La pleura visceral recibe su irrigación sanguínea de las arterias bronquiales y pulmonares, drenando a través de las venas pulmonares, mientras que la pleura parietal recibe irrigación sistémica y drena por las venas bronquiales e intercostales. El drenaje linfático de esta última varía según la region^{9,10,11}:

- La pleura costal drena a los ganglios torácicos internos e intercostales,
- La mediastínica lo hace a los ganglios traqueobronquiales y mediastínicos
- La diafragmática lo hace a los ganglios paraesternales, frénicos medios y mediastínicos posteriores.

1.6.1 ESPACIO PLEURAL

El espacio entre ambas pleuras (parietal y visceral) es una cavidad potencial. Contiene entre 10 a 20 mL de líquido claro, seroso y relativamente acelular, disperso en forma de capa delgada entre las pleuras. Este líquido lubrica ambas superficies para que se deslicen suavemente una contra la otra, al tiempo que crea una fuerza de cohesión entre ambas, lo

que permite el movimiento de los pulmones en sincronía con la pared torácica durante la respiración^{9,10,11}.

1.6.2 FLUIDO PLEURAL NORMAL

La composición de líquido pleural es similar a la del suero, excepto por su menor contenido proteico, característica que le confiere gran fluidez dentro del espacio pleural. El líquido es filtrado hacia el espacio pleural a través del mesotelio parietal por las fuerzas de Starling. La presión neta que mueve el líquido desde la pleura parietal hacia el espacio pleural es la presión capilar sistémica (18-30 cm H₂O) más la presión negativa intrapleural (5-9 cm H₂O). Se oponen a estas presiones la presión oncótica sanguínea (29-34 cm H₂O), menos la presión oncótica del líquido pleural (8 cm H₂O). Se ha determinado que la presión neta que favorece el movimiento de líquido desde la pleura parietal hacia el espacio pleural es de 9 cm H₂O, y la tasa de formación es de 0.1 mL/Kg peso/hora, aproximadamente. La única diferencia entre la pleura parietal y la visceral es que los capilares de la pleura visceral tienen la presión hidrostática de la circulación pulmonar, de tal forma que la presión neta a través de la pleura visceral es de 4-10 cm H₂O, favoreciendo el paso o absorción del líquido del espacio pleural hacia la pleura visceral¹².

1.7 DERRAME PLEURAL

Se llama derrame pleural a la cantidad excesiva de líquido presente en el espacio pleural. Esta acumulación anormal de fluido resulta cuando hay un desequilibrio entre los procesos de filtración y reabsorción.

El derrame pleural puede producirse por alguna de las siguientes circunstancias²:

- 1) por aumento de la presión hidrostática de la circulación sistémica y en consecuencia de capilares pleurales, como en la insuficiencia cardiaca congestiva o en la pericarditis,
- 2) por la difusión de líquido de ascitis desde el espacio peritoneal al espacio pleural, a través de defectos diafragmáticos o de los conductos linfáticos, como en la cirrosis con ascitis,

- 3) por disminución de la presión oncótica, como en el síndrome nefrótico o en la hipoalbuminemia,
- 4) por disminución de la presión intrapleural negativa, como en la atelectasia,
- 5) por ruptura de un granuloma en el espacio pleural, complicación grave en micosis como la coccidioidomycosis,
- 6) por aumento de la permeabilidad de la pleura visceral sobre la región pulmonar infartada, como en la embolia pulmonar,
- 7) por aumento de la permeabilidad vascular, como en la neumonía o en procesos inflamatorios de la pleura,
- 8) por disminución del drenaje linfático, como en los carcinomas pulmonares.

Para facilitar el diagnóstico, los derrames pleurales se pueden clasificar en exudados y trasudados, para ello se utilizan los Criterios de Light¹³.

Los exudados se deben a la inflamación pleural con aumento de la permeabilidad de la superficie pleural, aumento de la permeabilidad vascular o disminución en el drenaje linfático. Presentan al menos una de las siguientes características¹³:

- a) El cociente entre la concentración de proteínas en el derrame pleural y en el suero es mayor a 0.5 (la proteína del líquido pleural habitualmente es menor a 3.0 g/dL).
- b) El cociente de la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en el derrame y en el suero es mayor a 0.6.
- c) La actividad de la LDH en el derrame es mayor a 134 UI/L.

Los trasudados están causados por elevaciones de la presión hidrostática o reducciones de la presión oncótica, así como reducciones en la presión intrapleural negativa. No cumplen ninguno de los criterios incluyentes para exudados².

A partir de las características antes mencionadas los derrames pleurales se dividen en exudados y en trasudados, a su vez las diversas patologías productoras de derrame pleural se han dividido entre ambos grupos de la siguiente manera²:

Derrames pleurales trasudativos	Derrames pleurales exudativos
Insuficiencia cardíaca congestiva	Carcinomas
Cirrosis	Enfermedades infecciosas
Diálisis peritoneal	Tromboembolismo pulmonar
Síndrome nefrótico	Enfermedades gastrointestinales
Obstrucción de vena cava superior	Enfermedades vasculares de la colágena
Mixedema	Enf. pleurales inducidas por fármacos
	Exposición al asbesto
	Quilotórax
	Hemotórax
	Pleuritis urémica
	Sarcoidosis

1.8 DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER PULMONAR

Las primeras fuentes de información diagnóstica son: la historia clínica, que denota la exposición a factores de riesgo asociados con este tipo de cáncer; la edad del paciente y datos familiares que despiertan la sospecha de tumor; y la radiografía de tórax que en pacientes sintomáticos visualiza y localiza lesiones con calcificaciones, estenosis e irregularidades bronquiales. Sin embargo, la información diagnóstica que arroja la radiografía de tórax es limitada en cuanto al cáncer pulmonar se refiere².

El diagnóstico de cáncer pulmonar se determina por la presencia de células malignas en los estudios citológico y/o histológico.

El diagnóstico citológico implica el examen microscópico de células tumorales descamadas del tumor primario obtenidas de esputo, lavados bronquiales o líquido pleural extraído por toracocentesis; si bien el análisis en esputo es una importante herramienta diagnóstica, no siempre es específica para cáncer pulmonar, ya que en las neoplasias malignas de cabeza y cuello pueden hallarse resultados positivos^{14,15,16}.

El propósito de la toracocentesis es aliviar la compresión pulmonar e insuficiencia respiratoria debidas a la acumulación de líquido en el espacio pleural, las complicaciones asociadas con este procedimiento son el hemotórax, el neumotórax y el enfisema subcutáneo^{14,15,16}.

El diagnóstico histológico implica el examen microscópico de una muestra de tejido tomada mediante broncoscopia fibróptica, biopsia con aguja o toracotomía.

Por lo general, la toma de biopsia sigue a la toracocentesis. Los riesgos asociados a la toma de biopsias son neumotórax, hemorragia, paro cardíaco, estimulación de los reflejos vagales, embolismo de aire, infección y siembra de células tumorales a lo largo del trayecto de la aguja^{14,15,16}.

La toracotomía (biopsia pleural a cielo abierto) es un procedimiento quirúrgico mayor, en el que se lleva a cabo una incisión quirúrgica de la pared torácica, durante el procedimiento se separan las costillas y se abre la pleura^{14,15,16}.

Los estudios para descubrir metástasis incluyen pruebas de función hepática, biopsia de hígado y médula ósea, radiografía de cráneo, tomografía axial computarizada (TAC) de cerebro, tórax y abdomen; y centelleografía de huesos, bazo, hígado y glándulas suprarrenales^{14,15,16}.

La determinación del estadio del cáncer de pulmón es útil desde un punto de vista pronóstico y también para la selección del tratamiento. Puede efectuarse clínicamente, pero es más preciso tras la práctica de procedimientos que proporcionan información sobre la extensión de la enfermedad, tanto local como sistémica, en especial después de la toracotomía. El sistema TNM (tumor, ganglio, metástasis) es una clasificación estándar para determinar el estadio de los carcinomas pulmonares, excepto los de células pequeñas debido a que habitualmente estos tumores ya han metastatizado en el momento de su diagnóstico. Es por esto, que al carcinoma de células pequeñas se le clasifica como limitado o diseminado: el primero está confinado a un hemitórax con afectación de los ganglios linfáticos mediastínicos y supraclaviculares homolaterales o sin ella y el segundo es la extensión de la enfermedad más allá de dicha localización^{14,15,16}.

En el sistema TNM, la T(0-4) se refiere al tamaño del tumor primario, N(0-4) a la invasión de ganglios linfáticos, y M(0-1) a metástasis. Los subíndices numéricos indican diferentes categorías; las cifras más bajas implican mejor pronóstico. Por otro lado, los carcinomas

que se encuentran en los estadios(0-IIIa) son operables y los que se encuentran en los estadios (IIIb-IV) no son operables¹⁷.

Estadio	Sistema TNM	Características
0	TIS N0 M0	Carcinoma <i>in situ</i> .
I	T1-2 N0 M0	Tumor localizado de alrededor de 3 cm que no involucra nódulos linfáticos.
II	T1-2 N1 M0	Tumor que se ha diseminado a nódulos cercanos
IIIa	T1-3 N1-2 M0	Tumores de mayor tamaño, con mayor número de nódulos linfáticos involucrados.
IIIb	T1-3 N1-4 M0	
	T4 N1-2 M0	
IV	T1-4 N0-4 M1	Tumor que presenta metástasis.

1.9 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Como ya se ha mencionado, el derrame pleural puede ser el resultado de patologías diferentes al cáncer pulmonar y es por ello que debe hacerse el diagnóstico diferencial.

A continuación se hace una breve descripción de las patologías más frecuentes que desarrollan derrame pleural.

1.9.1 TUBERCULOSIS

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa pulmonar y extrapulmonar crónica, adquirida por inhalación. Se caracteriza por los estadios de infección precoz (con frecuencia asintomática), latencia y un potencial de enfermedad postprimaria recurrente.

Entre las pruebas diagnósticas se encuentran:

- a) Cultivo de la muestra biológica (esputo, líquido pleural, biopsia de tejido) positivo para *M. tuberculosis*.
- b) Tinción positiva de Ziehl-Neelsen del frotis de la muestra biológica (esputo, líquido pleural) para bacilos ácido-alcohol resistentes.
- c) En áreas geográficas no endémicas de la enfermedad, la prueba intradérmica con derivado proteico purificado (PPD) (reacción a la tuberculina) se torna positiva después de 3 a 6 semanas postinfección, un área de induración superior a 10 mm a las 48-72 horas indica que se ha montado la respuesta celular; no indica enfermedad activa.

- d) Biopsia pleural positiva para granulomas causados por la tuberculosis.
- e) Radiografía de tórax con hallazgos que pueden mostrar calcificación en la localización original, aumento del tamaño de los ganglios linfáticos hiliares, infiltración parenquimatosa que indica extensión de la localización original de la infección, o aparición de un derrame pleural o cavitación. No es una prueba para el diagnóstico definitivo de tuberculosis.
- f) Recuento de leucocitos en suero. La leucocitosis indica la presencia de una reacción inflamatoria. La inicial elevación de los neutrófilos seguida de la elevación de los monocitos y los linfocitos indica proceso inflamatorio.

Cabe mencionar que en la práctica, aún cuando todas o la mayoría de las pruebas antes mencionadas sean positivas, sólo tienen valor en el diagnóstico diferencial: la observación del granuloma en la biopsia pleural y el cultivo positivo del líquido y/o biopsia pleural^{14,15,16}.

1.9.2 MESOTELIOMA MALIGNO

El mesotelioma maligno se origina en la pleura visceral o parietal y presenta mayor incidencia entre personas expuestas al contacto con el asbesto. Hasta un 90% de los mesoteliomas publicados están relacionados con este factor. Se trata de una lesión difusa que está muy extendida en el espacio pleural y que suele asociarse a un derrame pleural abundante y a la invasión directa de las estructuras torácicas. El pulmón afectado está encapsulado por una gruesa capa de tejido tumoral blando, gelatinoso y de color rosa-grisáceo¹⁸.

Debido a que sin la microscopía electrónica, el diagnóstico diferencial entre mesotelioma y adenocarcinoma es difícil; en la práctica se realizan las siguientes técnicas como posibles marcadores diferenciales entre ambos carcinomas: 1) tinción positiva de mucopolisacáridos ácidos, que es inhibida por la digestión previa con hialuronidasa, 2) ausencia tintorial del antígeno carcinoembrionario (CEA), marcador que suele ser expresado por adenocarcinomas, 3) tinción intensa de las proteínas de queratina, que es más notable alrededor del núcleo que en la periferia¹⁸.

1.9.3 NEUMONÍA

La neumonía es el proceso inflamatorio de los bronquiolos y de los espacios alveolares producido por alguna infección. La neumonía puede estar causada por bacterias (*Streptococcus pneumoniae* (neumocócica), *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* tipo B), por virus (*Virus Influenza A*), por micoplasma (*M. pneumoniae*), hongos y parásitos. Por lo regular, la mitad de las neumonías están producidas por bacterias y la otra mitad por virus^{14,15,16}.

1.9.4 PLEURESÍA

La pleuresía es la inflamación de la pleura visceral y parietal. Puede denominarse asimismo pleuritis seca o pleuritis fibrinosa. La pleuresía se presenta como resultado de infecciones bacterianas pulmonares (como la neumonía), de infecciones víricas de los músculos intercostales, del transporte de un agente infeccioso o células neoplásicas directamente a la pleura por la circulación sanguínea o los linfáticos, de traumatismo pleural, de enfermedades pleurales relacionadas con el asbesto, o de las fases precoces de tuberculosis pulmonar, o del cáncer de pulmón. El diagnóstico se realiza fácilmente al basarse en las características del dolor pleural y la fricción pleural, ya que durante el desarrollo de la pleuritis, la pleura se vuelve edematosa, aparece un exudado sobre la superficie pleural y se observa una infiltración celular. El depósito de exudado fibroso produce que las superficies de la pleura se froten de forma áspera una con otra. Esto produce un roce pleural audible^{14,15,16}.

1.9.5 EDEMA PULMONAR

El edema pulmonar es la acumulación de líquido seroso en el intersticio y los alvéolos del pulmón. Puede ser el resultado de causas cardiogénicas y no cardiogénicas. El edema pulmonar cardiogénico, en general, acompaña a una cardiopatía subyacente en que la insuficiencia del ventrículo izquierdo produce un incremento del líquido que llega al interior de la aurícula izquierda y al interior de las venas y capilares pulmonares. La causa

más común de edema pulmonar es el incremento de la presión hidrostática capilar por insuficiencia del ventrículo izquierdo. El edema pulmonar no cardiogénico es el resultado de la lesión del endotelio capilar y del bloqueo de los vasos linfáticos. La lesión del endotelio incrementa la permeabilidad capilar y permite al líquido, rico en proteínas, escapar hacia el interior de los espacios intersticiales y los alvéolos. El bloqueo de los vasos linfáticos interrumpe la eliminación del exceso de líquido de los espacios intersticiales^{14,15,16}.

1.9.6 EMPIEMA

El empiema es la acumulación de líquido purulento en el espacio pleural. La causa más frecuente es la extensión directa desde las estructuras adyacentes, como ocurre en la neumonía, la tuberculosis, el absceso pulmonar, las bronquiectasias o la rotura esofágica. Los dos tipos de empiema, agudo y crónico, pueden afectar pequeñas áreas de la pleura o toda la cavidad pleural^{14,15,16}.

1.9.7 ABSCESO PULMONAR

El absceso del pulmón es una inflamación circunscrita y supurativa, seguida de una necrosis central. Los abscesos pulmonares están producidos, en general, por aspiración de material infectado, lo cual puede ocurrir durante la inconsciencia, la anestesia general, el alcoholismo, el ahogamiento no mortal, el carcinoma bronquial (tipo células escamosas), el coma diabético o la sedación por fármacos o drogas. Puede ocurrir, asimismo, como resultado de una mala higiene bucal, enfermedad de las encías, amígdalas infectadas o aspiración de alimentos. Una vez que el material se ha depositado, se forma un tejido de granulación fibroso a su alrededor que se engloba a sí mismo. Con el desarrollo del absceso, este tejido se llena de pus^{14,15,16}.

1.9.8 COCCIDIOIDOMICOSIS

Aproximadamente el 10% de los pacientes que sufren de coccidioidomicosis presentan derrame pleural. El diagnóstico se determina por el cultivo de líquido pleural o biopsia

pleural positivo para *Coccidioides immitis*; además de presentar títulos altos de anticuerpos (>1:16) mediante fijación de complemento².

1.9.9 PANCREATITIS

Aproximadamente el 20% de los pacientes con pancreatitis aguda desarrolla derrame pleural. Los síntomas de la pancreatitis son dolor abdominal, náuseas y vómito. El diagnóstico se establece al encontrar niveles altos de amilasa en el líquido pleural, en éste la amilasa es más alta que en el suero, usualmente con una relación 6:1 o mayor².

Otras patologías que también producen derrame pleural son lupus eritematoso sistémico (LES), lupus inducido por fármacos y artritis reumatoide, entre otras.

2. ANTECEDENTES

2.1 MARCADORES NO TUMORALES

Existen marcadores con una gran utilidad clínica en patologías benignas, mismos que constituyen ya pruebas de gabinete en el Sector Salud. Dentro de ellas, se encuentran el estudio de química sanguínea en el que se determinan concentraciones de glucosa, urea, ácido úrico y creatinina; también está el perfil hepático, de lípidos, inmunológico, tiroideo, TORCH, reumático, electrolitos, etc. en donde cada uno de ellos se enfoca hacia el funcionamiento de diferentes órganos y/o sistemas. Cabe mencionar que las deficiencias diagnósticas que algunos marcadores tumorales pueden tener, son subsanadas mediante los resultados que estos marcadores no tumorales reporten.

Algunos otros marcadores aún están en estudio, entre ellos destacan algunas enzimas como la adenosina desaminasa (ADA) que se ha observado tiene una buena relación con el diagnóstico de tuberculosis.

2.2 ADENOSINA DESAMINASA

La adenosina desaminasa (adenosina aminohidrolasa, EC 3.5.4.4; ADA^{19,20}) interviene en el catabolismo de las purinas. En términos específicos, la ADA cataliza la desaminación de substratos tales como la adenosina y sus análogos, transformándolos a inosina. Se ha reportado que es necesaria la presencia de ADA para la diferenciación de las células linfoides particularmente linfocitos T y en la maduración de monocitos-macrófagos, debido a su requerimiento metabólico²¹.

La ADA presenta dos isoenzimas conocidas como ADA1 y ADA2. ADA 1 es ubicua, mientras que ADA2 se encuentra sólo en monocitos²². La presencia del *M. tuberculosis* dentro de las células, causa liberación de la enzima con el consecuente incremento del contenido de ADA en los fluidos biológicos²³. Probablemente debido a lo anterior, ADA2 es el principal componente de la ADA sérica¹⁹. La forma pequeña de la enzima ADA es un monómero de peso molecular de 37.6 kD. La proteína de unión a la ADA es un dímero de

213 kD con glicosilaciones. La forma pequeña de la enzima ADA se combina con su proteína de unión en una proporción de 2:1 respectivamente para producir la forma grande de la ADA²⁰. Su localización a nivel celular es en la fracción citoplásmica, aunque también se ha llegado a encontrar en el núcleo²⁴.

La actividad de ADA es diez veces mayor en linfocitos que en eritrocitos y, con relación a los linfocitos es mayor en linfocitos T que en linfocitos B, además parece tener una relación creciente de acuerdo al estadio de maduración de las células T²⁵. Otros tejidos que presentan una actividad alta de ADA son la mucosa intestinal y el bazo; siendo mucho menor su actividad en hígado, músculo esquelético, piel y médula²⁴.

El incremento de la actividad de ADA previene la acumulación de adenosina o sus análogos, mismos que pueden liberarse a partir de la degranulación de las células cebadas y fijarse a receptores de adenosina superficiales de muchos tipos celulares, actuando como vasodilatadores. Dentro de los efectos colaterales no deseables por estas bases se encuentra la inducción de secreción por las células epiteliales intestinales y la broncoconstricción, observándose altas concentraciones de adenosina en la sangre durante episodios asmáticos agudos²⁵.

Los primeros estudios de esta enzima se asocian con el descubrimiento de la deficiencia de la ADA en la inmunodeficiencia severa combinada (IDSC) desde 1970²⁶, esta patología se caracteriza por la ausencia de inmunidad celular y humoral, lo que da como resultado la susceptibilidad temprana a infección por todos los tipos de microorganismos²⁵.

Contrariamente a lo que sucede en la IDSC, existen algunas patologías en las que la actividad de ADA se encuentra elevada, tales como tuberculosis^{22,27} y con menor frecuencia artritis reumatoide e infecciones linfoproliferativas como empiema, y en leucemia linfoide aguda²⁵.

Hay gran cantidad de reportes indicando que la actividad de ADA aumenta en fluidos biológicos de pacientes con tuberculosis (suero, derrame pleural, líquido cefalorraquídeo, etc.)^{11,22,25,27,28,29}.

No es clara la razón por la cual la actividad de esta enzima es alta en derrame pleural debido a tuberculosis. Se sugiere que siendo ADA una enzima predominantemente asociada con linfocitos T, su actividad se eleva en enfermedades donde se estimula la inmunidad celular. Sin embargo, el incremento es casi exclusivo de los derrames pleurales de origen tuberculoso pues ADA no aumenta su actividad en otros derrames linfocíticos. Algunos estudios previos han mostrado que el porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos T en derrames pleurales tuberculosos es más alto que en sangre periférica. Además, se ha encontrado un alto porcentaje de linfocitos T en derrames tuberculosos, pero esto no correlaciona con el nivel de ADA, lo que sugiere que la actividad de la enzima puede estar relacionada con el estadio de maduración de los linfocitos T, más que a su número³⁰. Estudios más recientes indican que en pacientes con pleuritis tuberculosa, los niveles de ADA correlacionan con el número absoluto de monocitos, por lo que parece que ADA en pleuritis tuberculosa está principalmente expresada por la población de monocitos²².

Bañales y cols.²⁷ presentaron 218 estudios de derrames pleurales y posteriormente llevaron a cabo un análisis reuniendo 2251 muestras en las cuales analizaron la actividad de ADA, encontrando sensibilidad de 99% y especificidad de 89%. Tuvieron 115 resultados falsos positivos (5.7%), que constaron de 20 casos de cáncer, 18 linfomas, 52empiemas y 6 mesoteliomas.

Valdés y cols.²³ reportaron que con VC de 47 UI/L de ADA en líquido pleural, la sensibilidad fue de 100% y la especificidad fue de 95%. El número de resultados falsos positivos fue 16 (3.5%).

Pérez-Rodríguez y cols.²² reportaron que con VC de 40 UI/L de ADA en líquido pleural, la sensibilidad de la prueba fue de 87.5% y la especificidad fue de 96.8%. El número de resultados falsos positivos fueron 8 (2.6%), cuatro empiemas, tres linfomas y un melanoma. La determinación de las isoenzimas de ADA en la pleuritis tuberculosa muestra que ADA incrementa su actividad particularmente a expensas de ADA2 y que el cociente de las actividades de ADA1/ADA mejora su asociación en términos de sensibilidad, especificidad y exactitud diagnósticas (100%, 92 a 97%, y 98%, respectivamente). Se ha reportado que

una alta actividad de ADA así como una proporción linfocitos/neutrófilos mayor a 0.75 pueden obviar la toma de biopsia pleural, especialmente en pacientes con edades menores a 35 años²².

2.3 MARCADORES TUMORALES

Los marcadores tumorales (MT) son toda sustancia producida o inducida por las células neoplásicas, que reflejan su crecimiento y/o actividad y que permiten conocer la evolución y/o la respuesta terapéutica de un tumor maligno.

A partir de esta definición, los MT se pueden subdividir en³¹:

1. Sustancias expresadas como resultado de la interacción tumor-hospedero. En general, éstas indican el daño causado por el tumor al tejido normal (compresión, riego sanguíneo reducido, invasión, etc.), en consecuencia pueden ser marcadores idóneos para etapas avanzadas de la enfermedad. Entre ellas se incluyen enzimas hepáticas, proteínas de fase aguda, etc.
2. Sustancias producidas y/o liberadas por el tumor. Son marcadores relativamente tempranos ya que se relacionan al tumor más que a la invasión del tejido sano. Pueden asociarse a procesos biológicos específicos regulación del ciclo celular, angiogénesis, apoptosis, adhesión celular, etc.³².

Además, los MT pueden ser *marcadores séricos* y *marcadores celulares*. Los primeros son producidos por la célula tumoral y liberados a los fluidos biológicos, mientras que los segundos no son secretados. El cromosoma Filadelfia fue el primer marcador celular de malignidad asociado con la leucemia mieloide crónica³³.

El nivel sérico de los MT está en función de variables tales como: a) expresión y liberación por el tumor, b) tamaño del tumor, c) metabolismo y depuración; o bien, d) disminución por dilución en sangre.

Un *marcador tumoral sérico ideal* cumpliría con las siguientes características: 1) ser sintetizado por la célula tumoral, 2) fácilmente detectable en los fluidos biológicos, 3) no sea producido en individuos sanos o en patologías benignas, 4) la cantidad del marcador

debe reflejar directamente la masa tumoral, pero aún así ser detectado cuando todavía no hay evidencia clínica del tumor; además, 5) la cantidad del marcador debe correlacionar con los resultados de la terapia antitumoral. Sin embargo, no se ha encontrado un marcador tumoral que cumpla con todos estos requerimientos.

Se han propuesto tres diferentes criterios de clasificación para los MT séricos³⁴:

1. Clasificación de acuerdo a sus características biológicas

- *Enzimas/isoenzimas*: como fosfatasa ácida prostática, enolasa neurón-específica, fosfatasa alcalina, antígeno prostático específico.
- *Hormonas*: como gonadotropina coriónica, calcitonina, tiroglobulina.
- *Marcadores de diferenciación*: como poliaminas, ácido siálico, ferritina, beta-microglobulina.
- *Moléculas de adhesión*: como antígeno carcinoembrionario.
- *Moléculas transportadoras*: como alfa-fetoproteína.

2. Clasificación de acuerdo a su valor pronóstico

- *Marcadores de diferenciación*: como receptores de progesterona y estrógeno en cáncer de mama.
- *Marcadores de proliferación*: como antígenos asociados con las fases del ciclo celular, factores de crecimiento y sus receptores.
- *Marcadores de potencial metastático*: como proteasas y moléculas de adhesión.
- *Oncogenes y anti-oncogenes*: como los oncogenes BRCA1 y BRCA2 asociados con el cáncer mamario y MSH2, MLH1, PMS1, PMS2 asociados con cáncer uterino, etc.

3. Clasificación de acuerdo a su aumento cuantitativo

- *Antígenos oncofetales*, se refiere a antígenos expresados durante la embriogénesis, cuya expresión disminuye considerablemente después del nacimiento (en algunas ocasiones desaparecen) y, pueden volver a expresarse en el desarrollo neoplásico presente en el órgano que lo expresó durante la gestación. En esta categoría se incluyen al antígeno carcinoembrionario y la alfa-fetoproteína.

- *Proteínas no oncofetales*, se considera a la sobreexpresión cuantitativa de antígenos normalmente expresados por los tejidos. Incluye citoqueratinas e inmunoglobulinas
- *Antígenos carbohidratados*, se trata de variantes post-transcripcionales debidas a la glicosilación anormal de componentes de membrana celular (mucinas), incluye glicolípidos asociados a tumor.

2.4 APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS MARCADORES TUMORALES

En el diagnóstico, es deseable que los MT indiquen la presencia de cáncer en personas asintomáticas; ésto es, antes de que aparezca la sintomatología característica del cáncer, que a menudo se presenta en las etapas más avanzadas. Desafortunadamente, se ha observado que la medición de los niveles de los MT en forma única, no es suficiente para el diagnóstico de cáncer, debido a que el nivel de ellos puede elevarse en personas con enfermedades benignas; o por el contrario, no elevarse en algunas personas con cáncer, especialmente en las etapas tempranas de la enfermedad. Asimismo, se ha encontrado que muchos marcadores tumorales no son específicos de un tipo particular de cáncer³⁵.

Los niveles de algunos MT también pueden ser medidos antes del tratamiento para ayudar a la programación y monitoreo de la terapia antitumoral. Así, una disminución y/o regreso a los niveles normales de un marcador tumoral puede indicar que la terapia antitumoral es adecuada, pero si el nivel del marcador tumoral se mantiene o aumenta, puede indicar que el cáncer no responde al tratamiento. En algunos tipos de cáncer, los niveles del marcador tumoral reflejan la etapa de la enfermedad, lo que denota su valor pronóstico. También se pueden medir los niveles del marcador tumoral después de que finaliza el tratamiento como parte del seguimiento para controlar la recaída.

Algunos investigadores han propuesto un Sistema para Graduar la Utilidad de Marcadores Tumorales (SGUMT), el cual evalúa la utilidad clínica de los marcadores tumorales y además establece una agenda de investigación para evaluar nuevos marcadores tumorales^{36,37}. Otros han evaluado la conveniencia de realizar ciertas asociaciones entre marcadores tumorales, estimando su utilidad clínica en el diagnóstico, pronóstico, recaída,

valoración de la terapia y diagnóstico diferencial de la estirpe histológica^{38,39}. Se han estudiado conjuntamente hasta siete marcadores tumorales analizados en derrame pleural para el diagnóstico de derrame maligno⁴⁰.

2.5 ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es uno de los MT más estudiados, desde que fue descrito por primera vez en 1965 por Gold y Freedman⁴¹ en pacientes con adenocarcinoma de colon. El CEA se ha clasificado como un antígeno oncofetal debido a que es producido por células del intestino durante la vida embrionaria y fetal, interrumpiéndose su producción en el momento del nacimiento⁴². Sin embargo, se puede detectar una pequeña concentración en el suero de personas sanas⁴³. El CEA es una glicoproteína de peso molecular elevado (180 kD) que se encuentra presente en la membrana citoplasmática de células glandulares, y que puede ser liberada fácilmente a los fluidos biológicos. Se ha reportado que la vida media sérica postoperatoria de CEA tiene una mediana de 4.4 días⁴⁴, siendo el hígado el principal órgano donde se lleva a cabo su metabolismo⁴⁵.

El CEA pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas, familia con más de 20 miembros. Los genes de esta familia codifican para un grupo de proteínas con propiedades de adhesión celular y algunas con funciones en la transducción de señales, también codifica para un grupo de glicoproteínas específicas del embarazo cuyas funciones aún no se conocen bien^{46,47}.

La concentración del marcador tumoral CEA de una muestra determinada, puede variar en función de los métodos de análisis y de la especificidad de los reactivos. Durante un cambio de técnica y dentro del marco de seguimiento del paciente, el laboratorio debe confirmar las concentraciones anteriormente encontradas⁴⁸.

Los niveles de CEA pueden encontrarse ligeramente elevados en algunas alteraciones benignas tales como: en 15 a 20% de pacientes con pólipos colorectales, pancreatitis, enfermedad hepática e infecciones pulmonares incluyendo a la tuberculosis y en 50% de

pacientes con enfermedad hepática alcohólica severa. Estas elevaciones pueden deberse a la falla en la depuración de las cantidades de CEA secretadas por la mucosa intestinal normal. Este comportamiento se presenta también en pacientes con daño renal, aunque las concentraciones no suben más de 10 ng/mL⁴².

Se ha descrito que el hábito tabáquico no modifica la concentración de CEA en el plasma de sujetos sanos fumadores respecto a su concentración en el plasma de sujetos sanos no fumadores, encontrándose la mayoría, tanto fumadores como no fumadores, dentro del intervalo de 0 a 3 ng/mL, detectado mediante el ensayo inmunofluorescente unido a enzima (ELFA)⁴⁹.

Se ha reportado la elevación de CEA en varios tipos de cáncer, entre los que se encuentran: pulmón (52 a 77%), colorectal (65 a 80%), páncreas (61 a 68%), estómago (40 a 60%), hígado (40 a 60%), tracto biliar (80%), tiroides (50 a 70%), cérvix (42 a 50%), endometrio (27%), ovario (35%) y mama (30 a 50%)^{42,43}.

Dentro de las patologías que producen derrame pleural y que están más frecuentemente asociadas con falsos positivos en la determinación de CEA, se encuentran empiemas, derrames paraneumónicos complicados, derrames debidos a cirrosis hepática, pancreatitis aguda y con menor frecuencia tuberculosis⁵⁰.

En el cáncer pulmonar, ha sido evaluada la importancia clínica de CEA y varios reportes han enfatizado su valor en la definición de la etapa en la que se encuentra el paciente y el monitoreo de la respuesta a la terapia antitumoral^{42,51,52}.

Para el monitoreo de la respuesta a la quimioterapia, Shinkai y cols. reportaron que el hacer mediciones seriadas de CEA en plasma de pacientes con cáncer pulmonar, es útil en aquellos cuyos niveles pretratamiento se encuentran en o por arriba de 20 ng/mL. También indican que sólo un tercio de los pacientes con cáncer de pulmón en etapa avanzada presentan concentraciones de 20 ng/mL o mayores⁵¹.

Takeo y cols.⁵² encontraron que la esperanza de vida a cinco años en pacientes con cáncer pulmonar disminuía conforme aumentaba la concentración sérica preoperatoria de CEA. También reportaron que pacientes cuyos niveles séricos postoperatorios de CEA no

regresaron a la normalidad, murieron en un periodo de cuatro años, lo que indica que la normalización del nivel sérico de CEA es un factor importante en el pronóstico de este tipo de malignidad.

En derrames pleurales malignos, se ha reportado que los niveles de CEA son significativamente mayores que en derrames pleurales benignos^{8,16,53}. Este comportamiento también se observa cuando se realiza la determinación sérica, encontrándose niveles más elevados en malignidad que en condiciones benignas^{16,53}. Sin embargo, la sensibilidad en líquido pleural varía de 34 a 57%, mientras que la especificidad varía de 91 a 100%^{8,16,54,55}. Y en suero, la sensibilidad varía de 27 a 55% mientras que la especificidad varía de 80 a 95%^{8,16,55,56,57,58,59}.

Se ha establecido que la determinación de CEA identifica sólo al 18% de los pacientes con derrames pleurales malignos quienes inicialmente tuvieron una citología negativa⁵³.

2.6 CYFRA 21-1

Se le denomina Cyfra 21-1 a un fragmento soluble de la citoqueratina 19 reconocido por los anticuerpos monoclonales KS 19.1 y BM 19.21, obtenidos por inmunización con células de adenocarcinoma de mama MCF-7 y derivándose de aquí el nombre del kit comercial. Estos anticuerpos reaccionan contra dos epítopos del fragmento de la citoqueratina 19 (PM 30kD)⁵⁵. La citoqueratina 19 pertenece a la familia de los filamentos intermedios que forman parte del citoesqueleto celular.

Los filamentos intermedios constituyen una familia de filamentos proteicos de unos 10 nm de longitud que se encuentran en distintos tipos de células y que suelen acumularse en zonas de alta resistencia estructural o en la formación de un andamiaje para la unión con otras estructuras, aunque también se les ha asociado como transportador de proteínas para la transducción de señales (citoqueratina 8)⁶⁰. Los filamentos intermedios pueden dividirse en tres categorías: la categoría A corresponde a las citoqueratinas (ácidas, básicas y neutras), la categoría B engloba a la vimentina, desmina, proteína ácida gliofibrilar, periferina, neurofilamentos, nestina e internexina; y en la categoría C se encuentran las láminas

nucleares I-III. Los distintos tipos son característicos de determinados tejidos o estados de maduración, por lo que se han convertido en indicadores importantes de los orígenes o de los grados de diferenciación de las células y tienen un valor considerable en histopatología⁶¹.

Las citoqueratinas son codificadas por una familia multigen que expresan polipéptidos en diferentes etapas y rutas en la diferenciación epitelial, esto permite distinguir y clasificar células epiteliales con respecto a su patrón específico de citoqueratinas.

Los filamentos de citoqueratina (o queratina) son heteropolímeros formados por combinaciones equivalentes de citoqueratinas tipos I (ácidas) y II (básicas y neutras). Se conocen alrededor de 15 tipos de queratinas ácidas y el mismo número de queratinas básicas y neutras⁶¹. Las citoqueratinas 18 y 19 son citoqueratinas tipo I o ácidas y se expresan usualmente con la citoqueratina 8, la cual es una citoqueratina tipo II o básica⁶².

Se ha comprobado que la estructura química de la queratina va cambiando a medida que las células emigran desde su posición basal en la epidermis hasta alcanzar la forma aplanada propia del estrato maduro o córneo, donde forman láminas prácticamente sólidas de filamentos⁶¹.

En función de su peso molecular, las citoqueratinas pueden dividirse en citoqueratinas de alto peso molecular y citoqueratinas de bajo peso molecular.

Las citoqueratinas se encuentran en los epitelios y sus patrones de expresión son dependientes de la diferenciación. En pulmón, se ha demostrado que en el epitelio traqueal y en el epitelio glándular se expresan las citoqueratinas 7, 8, 18 y 19 y también citoqueratinas básicas en varias cantidades y en patrones diferentes. En el epitelio escamoso estratificado puede encontrarse citoqueratinas básicas y usualmente también en menor cantidad a la citoqueratina 19. Las citoqueratinas 8, 18 y 19 se expresan en el epitelio simple, incluyendo el epitelio bronquial y tumores malignos derivados de estas células⁶².

La citoqueratina 19 (peso molecular 40 kD; pH isoeléctrico 5.2) se encuentra en una amplia variedad de tejidos epiteliales, aparece como un componente mayoritario en el epitelio simple y usualmente como un componente minoritario en epitelio estratificado⁶².

Una probable explicación de la elevación sérica de Cyfra 21-1 es que los filamentos del citoesqueleto son destruidos durante la necrosis celular por procesos proteolíticos, dando lugar a los componentes solubles, los cuales pueden penetrar en los vasos sanguíneos. Esto implicaría que las citoqueratinas presentes en la circulación no reflejarían el crecimiento tumoral o el número de células tumorales viables en sí, sino que podría reflejar necrosis celular, la cual ocurre a menudo en el rápido crecimiento tumoral. Otra posibilidad de la elevación sérica de Cyfra 21-1 es que algunas células tumorales liberen citoqueratinas sin que se lleve a cabo el proceso de necrosis⁶³.

Kao y cols.⁶⁴ determinaron la concentración sérica de Cyfra 21-1 en grupos de mujeres sanas no fumadoras, hombres sanos no fumadores y hombres sanos fumadores, encontrando que los niveles séricos de Cyfra 21-1 no se ven alterados por el sexo ni por el tabaquismo. Se ha reportado que Cyfra 21-1 se eleva en pacientes que presentan daño renal crónico, encontrando correlaciones positivas entre las concentraciones séricas de creatinina y Cyfra 21-1⁶⁵. También se elevan los niveles de este marcador en enfermedades hepáticas (hepatitis, cirrosis) y en procesos pulmonares, sobre todo infecciosos.

Se ha encontrado que las citoqueratinas 7, 8, 18, 20 y especialmente la citoqueratina 19 son abundantemente expresadas por varios carcinomas de origen pulmonar, del tracto gastrointestinal, de mama y de ovarios⁶².

Toumbis y cols.⁶⁶ reportaron que los niveles de Cyfra 21-1 en el derrame pleural de origen maligno y benigno fueron de 1 a 385 veces más altos que los niveles encontrados en suero de los pacientes de ambos grupos estudiados.

Se ha reportado que Cyfra 21-1 puede ser útil para discriminar entre derrames pleurales de origen benigno y maligno, particularmente aquellos debidos a cáncer pulmonar de células escamosas y adenocarcinoma^{66, 67}. No encontrando diferencias significativas de Cyfra 21-1 entre exudados benignos y trasudados. Asimismo, se observó que Cyfra 21-1 no es un buen marcador para diferenciar entre tipos histológicos de cáncer pulmonar⁶⁷.

En derrames pleurales malignos, se ha reportado que los niveles de Cyfra 21-1 son significativamente mayores que en derrames pleurales benignos⁶⁸, con sensibilidades de 70 a 82% y especificidades de 71 a 92%^{66,68}. Este comportamiento también se observa a nivel sérico, encontrándose niveles más elevados en malignidad que en condiciones benignas⁶⁹; la sensibilidad varía de 46 a 74% mientras que la especificidad varía de 95 a 97%^{58,59,69,70,71}.

Ruay-Sheng y cols.⁵⁹ reportaron que Cyfra 21-1 puede reflejar cambios de carga tumoral, de manera que puede ser útil para el monitoreo del tratamiento para el carcinoma de células escamosas. Además, se ha reportado que Cyfra 21-1 tiene una asociación positiva con recaídas. Sin embargo, estos mismos autores reportan que los cambios en Cyfra 21-1 después del primer tratamiento de quimioterapia no son capaces de predecir la respuesta futura al tratamiento. Es decir, un incremento en el nivel del marcador sin progresión clínica no significa el fracaso de la quimioterapia y no deberían conducir a la interrupción del tratamiento⁷².

Otros reportes también concluyen que la sensibilidad de Cyfra 21-1 correlaciona con el tamaño y el estadio en el que se encuentra el tumor, sobretodo en el caso del cáncer pulmonar de células no pequeñas^{69,70,71}. Sin embargo, otros estudios concuerdan en que Cyfra 21-1 no es capaz de discriminar entre la etapa IIIa (operable) y etapa IIIb (no operable)⁶⁹.

2.7 CEA Y CYFRA 21-1

Se ha estudiado la valoración conjunta de CEA, Cyfra 21-1 con algunos otros marcadores, encontrándose que la evaluación del antígeno específico tisular polipeptídico (TPS), Cyfra 21-1 y CEA en el carcinoma de pulmón de células no pequeñas puede proporcionar información adicional para el pronóstico de esta malignidad⁵⁶.

La evaluación de los antígenos carbohidratados CA 72-4, CA 15-3 y el CEA puede ser útil para diferenciar entre derrames pleurales de origen benigno del maligno⁵⁴.

Riedel y cols.⁷³ evaluaron el valor diagnóstico de la utilización conjunta de Cyfra 21-1, CEA y antígeno tisular polipeptídico (TPA-M), determinados en derrame pleural de origen maligno y no maligno. La sensibilidad de la combinación de los tres marcadores tumorales fue del 85.7% y la especificidad del 59.1%, estos parámetros diagnósticos se calcularon considerando los valores de corte correspondientes a la especificidad más alta para cada uno de los marcadores.

Lai y cols.⁷⁴ concluyeron que la combinación de Cyfra 21-1 y CEA puede incrementar su utilidad diagnóstica en derrame pleural maligno en comparación con la determinación única de CEA o Cyfra 21-1.

Ebert y cols.³⁹ llevaron a cabo la medición de Cyfra 21-1, TPA-TP, CEA y NSE encontrando que su valor en el diagnóstico primario de cáncer de pulmón es mínimo. Después de cirugía en NSCLC solo los niveles de Cyfra 21-1 regresaron a los niveles normales en el transcurso de una semana. Concluyeron que el incremento en los niveles del marcador pueden ayudar a decidir cuales pacientes no deberían tener largos tratamientos por fármacos inefectivos y tóxicos.

ENOLASA NEURÓN-ESPECÍFICA

La enolasa neurón-específica (NSE) se encuentra presente principalmente en las células neuronales y neuroendocrinas. Los valores normales son inferiores a 15 mg/l, detectándose incrementos moderados (< 25-30 mg/l) en pacientes con neumopatías (principalmente infecciosas) e insuficiencia renal. La enolasa neurón-específica se emplea como MT en tumores neuroendócrinos: neuroblastoma, tumor de Wilms, melanoma, cáncer de riñón, testículo, páncreas, de la tiroides y cáncer pulmonar de células pequeñas (SCLC). Éste último ha presentado una sensibilidad del 30-40 % en los estadios intratorácicos y del 70-80 % en los estadios extratorácicos; además, pueden detectarse incrementos moderados en otros tipos histológicos de carcinoma broncopulmonar^{4,34,35,36}. Sin embargo, este tipo de cáncer pulmonar tiene una frecuencia muy baja entre la población mexicana, lo anterior se reflejó en el número de SCLC incluidos en nuestra población de estudio, ver Tabla I. Por esto, la NSE no fue considerada en el presente trabajo.

3. JUSTIFICACIÓN

En México, las enfermedades cardiovasculares ocupan la primera causa de muerte seguidas por los tumores malignos. Dentro de éstos, los tumores malignos de órganos respiratorios e intratorácicos ocupan un lugar importante.

En el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), este tipo de carcinoma constituye la cuarta causa más frecuente de consulta y de hospitalización. Estos individuos presentan cierta sintomatología, como tos, pérdida de peso, dolor en el pecho y disnea. Esta última puede ser la consecuencia clínica que denota la presencia de un derrame pleural. Sin embargo, el desarrollo de éste no es exclusivo del cáncer pulmonar, pues existen otras patologías benignas que también pueden producirlo.

En especial, el diagnóstico diferencial entre tuberculosis y cáncer pulmonar se lleva a cabo por el hallazgo del microorganismo en el cultivo y/o del granuloma en la biopsia para el primero, mientras que la identificación de las células malignas en el derrame y/o en la biopsia pleural definen la malignidad.

Por otro lado, los estudios para llegar al diagnóstico certero requieren de tiempo, hospitalización y riesgo para el paciente. Debido a que el estudio del derrame y/o biopsia pleural pueden presentar algunas limitaciones diagnósticas, en ocasiones se requiere emplear otros procedimientos aún más invasivos en el paciente a fin de establecer la etiología de la enfermedad. Esto naturalmente además de afectar la economía familiar, mantiene cierto estrés en el paciente ante la incertidumbre del conocimiento de la etiología de su padecimiento.

Por lo anteriormente expuesto, el empleo de métodos alternativos en el diagnóstico es de suma importancia. Dentro de éstos, los marcadores tumorales y no tumorales pueden emplearse como una prueba orientadora para el clínico. Dichas determinaciones son rápidas y no necesariamente requieren el empleo de métodos invasivos, cuya práctica se limita por la adicional dificultad técnica, lo que disminuye costos y tiempos; además estas determinaciones prácticamente no se ven afectadas por la habilidad o experiencia de la persona que toma la muestra –muy importante en las biopsias- o de la que interpreta el estudio.

En función al cáncer pulmonar se ha indicado que los marcadores tumorales como son el antígeno carcinoembrionario, Cyfra 21-1 y la enolasa neurón-específica han mostrado cierta asociación con el tipo histológico; los dos primeros se relacionan a tumores de células no pequeñas, mientras que el último a tumores de células pequeñas.

Por otra parte, se ha reportado que la enzima adenosina desaminasa, que es un marcador no tumoral, tiene una buena relación con el diagnóstico de tuberculosis.

Existen pocos reportes que evalúan la utilidad clínica del empleo de un panel de marcadores tumorales en el diagnóstico de cáncer pulmonar, y hay menos que evalúen esta utilidad empleando un panel compuesto de marcadores tumorales y no tumorales. Además la mayoría de estos reportes enfocan su estudio principalmente a la determinación sérica. Así, aprovechando que la toracocentesis es una medida terapéutica, que el líquido obtenido se desecha y que por su ubicación se encuentra en contacto directo con el crecimiento tumoral, constituye un fluido biológico adecuado para el estudio de marcadores tumorales asociados con el diagnóstico de cáncer pulmonar, pudiendo estudiarse a la par en el plasma.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

- ◆ Establecer la utilidad diagnóstica de CEA y Cyfra 21-1 como marcadores asociados al derrame pleural de origen maligno, excluyendo previamente los derrames pleurales de origen tuberculoso mediante la determinación de ADA, así como la valoración diagnóstica de la asociación de estos marcadores a nivel sérico.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- ◆ Evaluar los marcadores Cyfra 21-1, CEA y ADA en el plasma y en el líquido pleural de pacientes que produjeron derrame pleural secundario a cáncer pulmonar, tuberculosis y otras patologías benignas.
- ◆ Determinar los valores de corte en función de los mejores parámetros diagnósticos para cada uno de los marcadores, tanto en plasma como en líquido pleural.
- ◆ Determinar los parámetros diagnósticos para las diferentes asociaciones de los marcadores, relacionadas con el diagnóstico de cáncer pulmonar, tanto en plasma como en líquido pleural.
- ◆ Establecer si la asociación de los marcadores analizados mejora la utilidad diagnóstica que la sola determinación de uno de los marcadores.

5. HIPÓTESIS

Las células tumorales pueden secretar o inducir la liberación de sustancias que reflejan la presencia y/o la actividad de dichas células, tales sustancias también llamadas marcadores tumorales, pueden encontrarse en altas concentraciones en los fluidos biológicos, tales como derrame pleural y plasma.

En virtud de que CEA y Cyfra 21-1 son marcadores tumorales que no comparten un origen etiológico común, es posible que en el caso de pacientes con cáncer pulmonar se encuentre elevado alguno o ambos marcadores. Además, siendo ADA un marcador asociado con tuberculosis, probablemente la actividad de ADA se encontrará disminuida en malignidad. De esta forma la asociación de los tres marcadores disminuirá el número de falsos positivos mejorando así su utilidad clínica en el diagnóstico de cáncer pulmonar. Asimismo, es posible que esta asociación mejore el valor diagnóstico en relación con la determinación única del marcador. El comportamiento antes mencionado puede analizarse en derrame pleural y en suero.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 MATERIAL BIOLÓGICO

La población estudiada quedó constituida por 123 individuos, 88 hombres y 35 mujeres, cuyas edades fluctuaron de 22 a 90 y de 23 a 79 años, respectivamente. El diagnóstico definitivo de 104 pacientes fue: 63 con carcinoma pulmonar, 22 con tuberculosis y 19 como misceláneos, grupo que incluyó otras patologías que producen derrame pleural como neumonía, insuficiencia cardíaca congestiva, coccidioidomicosis, pleuritis por micoplasma, pleuresía reactiva, neumotórax, fibrotórax, derrames pleurales secundarios a insuficiencias hepáticas o renales y derrames pleurales secundarios a diabetes mellitus. Además, como grupo control se trabajó con el plasma de 19 individuos sanos, ver Tabla I.

6.1.1 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras sanguíneas se obtuvieron a partir de punción intravenosa del paciente o individuo sano, utilizando como anticoagulante heparina. La sangre fue centrifugada a 2000 r.p.m. durante 15 min., recuperándose el plasma.

El líquido pleural se obtuvo por medio de toracocentesis aséptica. Este fue centrifugado a 2000 r.p.m. durante 15 min., recuperándose el sobrenadante. Tanto éste como el plasma se almacenaron en congelación (-14°C) para su empleo posterior.

6.2 DETERMINACIÓN DE CYFRA 21-1

Este marcador se determinó usando el kit comercial Enzymum-Test CYFRA 21-1 obtenido de Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany.

La determinación se realizó mediante un ensayo inmunoabsorbente unido a enzima (ELISA) tipo emparejado, en el cual el fragmento soluble de la citoqueratina 19 reaccionó con un anticuerpo anti-citoqueratina 19 biotinilado; el complejo formado se inmovilizó sobre una superficie sólida recubierta con estreptavidina. Se lavó y posteriormente se añadió un segundo anticuerpo con reactividad a un sitio distinto del fragmento soluble de la citoqueratina 19, conjugado a la enzima peroxidasa (POD). Se lavó y añadió el sustrato de la enzima y el cromógeno (H_2O_2 y la sal diamónica del ácido 2,2'-azino-di-[3-etil

benzotiazolina]-6-sulfónico (ABTS), respectivamente). Se obtuvo un producto colorido que se cuantificó por espectrofotometría.

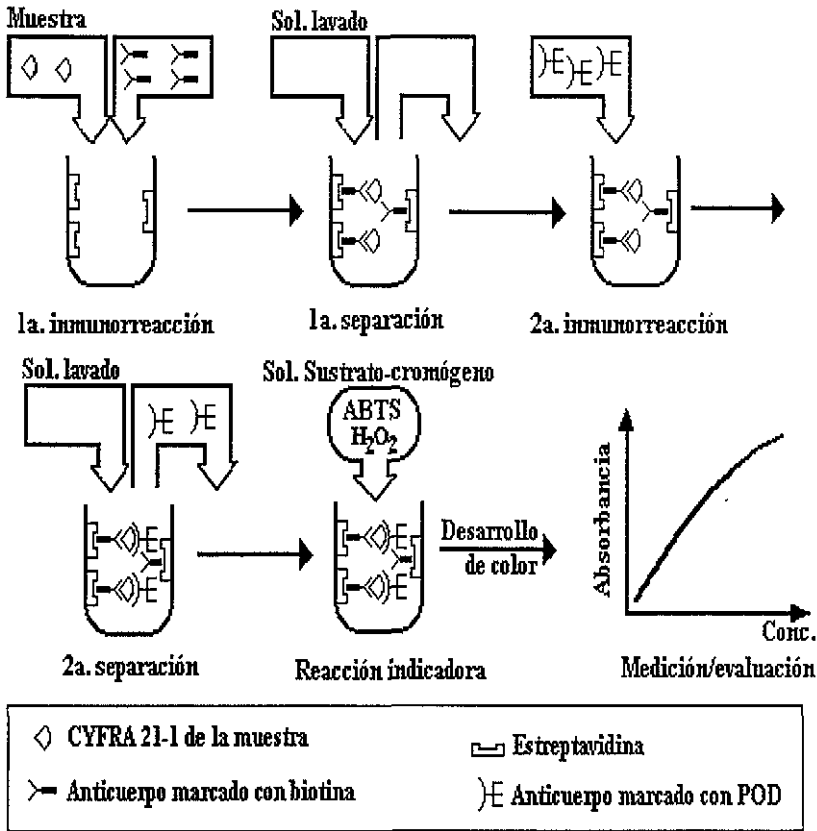


Figura 1. Ensayo inmunoabsorbente unido a enzima (ELISA) tipo emparejado que utiliza el completo estreptavidina biotina.

6.2.1 PROCEDIMIENTO MANUAL

Tanto los estándares (con rango de 0 a 60 ng/mL) como las muestras biológicas se trabajaron por duplicado de la siguiente forma: 50 μ L de la muestra o del estándar y 1000 μ L de la solución que contenía el anticuerpo anti-citoqueratina 19 biotinilado se mezclaron e incubaron en tubos de plástico recubiertos con estreptavidina, por 30 minutos a temperatura ambiente y tapados con parafilm. Después se realizaron tres lavados con 2 mL de PBS-Tween al 0.1%. Posteriormente a los tubos se les adicionaron 1000 μ L de la solución que contenía el anticuerpo anti-citoqueratina 19 marcado con POD y se incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente. Se realizaron dos lavados con PBS-Tween al 0.1% y una vez más con PBS. Posteriormente se adicionaron 1000 μ L de la solución sustrato-cromógeno (H_2O_2 , ABTS). Se incubó durante 60 min. en la oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente, se midieron las absorbancias fotométricamente a 420 nm frente a la solución sustrato-cromógeno, ver Figura 1.

La concentración de citoqueratina 19 presente en las muestras biológicas se obtuvo por interpolación a partir de la curva patrón que se estableció con los estándares de referencia.

6.3 DETERMINACIÓN DE CEA

La concentración del antígeno carcinoembrionario (CEA) se determinó usando el kit comercial Vidas CEA (BIO MERIEUX VITEK, INC., Francia) que consistió en un inmunoensayo fluorescente unido a enzima (ELFA) tipo emparejado, en el cual el CEA presente en la muestra biológica reaccionó con un anticuerpo monoclonal anti-CEA previamente inmovilizado sobre un receptáculo de fase sólida (cono). Entonces, se añadió un segundo anticuerpo, con reactividad a un sitio distinto del CEA, conjugado a la enzima fosfatasa alcalina. Se añadió el sustrato de la enzima (4-metil-umbeliferil fosfato) y se obtuvo de dicha reacción un producto fluorescente (4-metil-umbeliferona), cuya fluorescencia es proporcional a la concentración del CEA presente en la muestra.

En el ensayo se emplearon receptáculos de fase sólida recubiertos de inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-CEA, cuyo intervalo de medición fue de 0.5 a 200.0 ng/mL, ver Figura 2A. Las tiras tenían seis pocillos conteniendo lo siguiente, ver Figura 2B:

Pocillo Reactivos

- 1 Pocillo vacío destinado para depositar el estándar, la muestra biológica o su dilución, según sea el caso, para ser tomada por el receptáculo que contiene el anticuerpo monoclonal anti-CEA.
- 2 Conjugado: Inmunoglobulinas policlonales de cabra anti-CEA marcadas con fosfatasa alcalina + azida sódica 1 g/L (400 μ L).
- 3-4 Buffer de lavado : fosfato de sodio (0.01 mol/L, pH 7.4) + azida sódica 1 g/L (600 μ L).
- 5 Buffer de lavado: DEA (1.1 mol/L, pH 9.8) + azida sódica 1 g/L (600 μ L).
- 6 Cubeta de lectura. Sustrato: 4-metil-umbeliferil fosfato (0.6 mmol/L) + azida sódica 1 g/L (300 μ L).

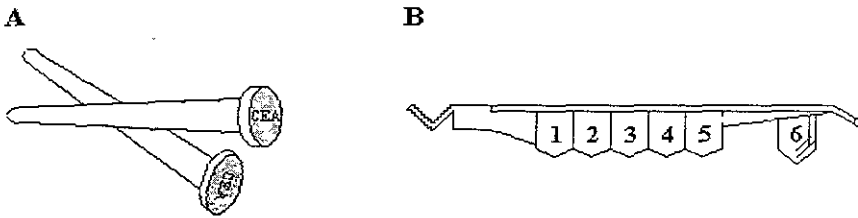


Figura 2. Reactivos incluidos en la determinación del CEA. **A:** Receptáculo de Fase Sólida (cono). **B:** Tira de Reactivos.

6.3.1 PROCEDIMIENTO AUTOMATIZADO

Todas las etapas de la técnica fueron realizadas automáticamente en el equipo VIDAS. El cono recubierto de inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-CEA cumplió con dos funciones : 1) captura el antígeno presente en la muestra biológica y, 2) como sistema de pipeteo o trasvasación.

Los otros reactivos venían colocados, por el fabricante, en la tira de reactivos.

Después de depositar 200 μ L de la muestra biológica en el pocillo uno, el cono succionó dicha muestra y la transfirió al pocillo siguiente que contenía las inmunoglobulinas policlonales de cabra, con reactividad a un sitio distinto del CEA, conjugadas a la enzima fosfatasa alcalina. La mezcla fue aspirada y depositada varias veces por el cono, con el fin de aumentar la velocidad de reacción. Tras la última deposición, el cono pasa al pocillo 3 donde aspiró y depositó varias veces el buffer de lavado, hecho que se repitió en los pocillos 4 y 5. Finalmente el cono aspiró el sustrato, y la fosfatasa generó el producto 4-metil-umbeliferona, mismo que luego fue depositado en la cubeta de lectura (pocillo 6). La

4-metil-umbeliferona es un compuesto fluorescente cuya emisión se midió a 450 nm, ver Figura 3. La fluorescencia fue proporcional a la concentración del antígeno presente en la muestra. Al terminar la técnica, los resultados fueron calculados automáticamente por el equipo VIDAS comparándolos con una curva patrón interna y fueron impresos posteriormente. Esta curva se calibró cada 14 días con el calibrador suministrado en el kit.

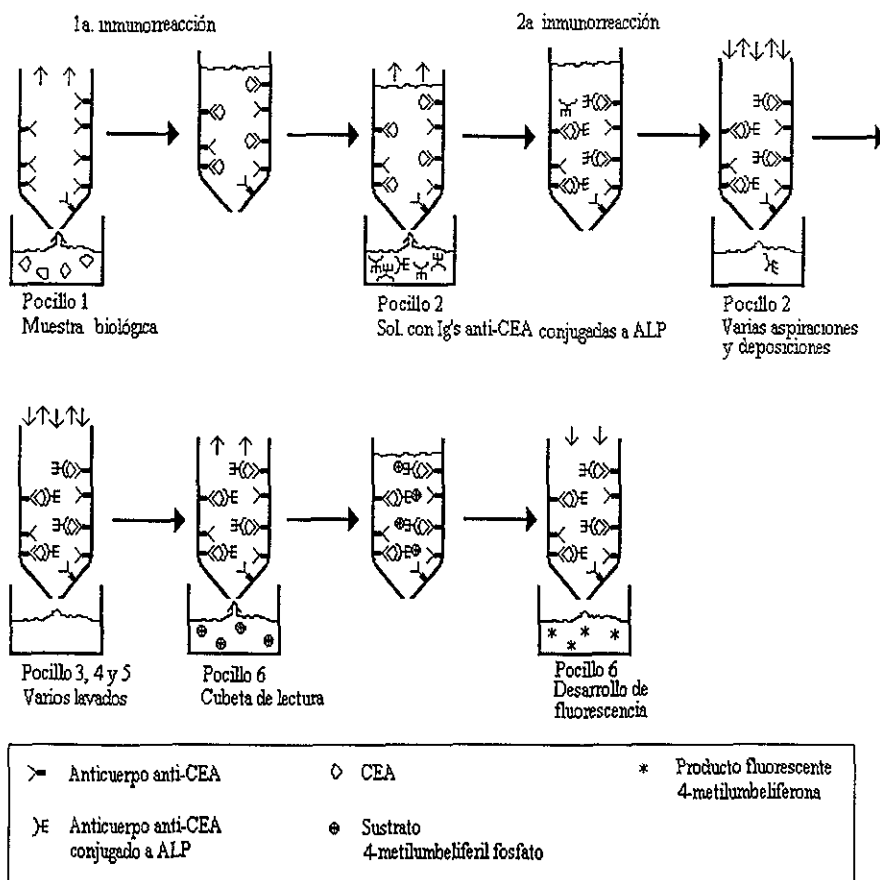


Figura 3. Ensayo inmunofluorescente unido a enzima (ELFA), tipo emparedado.

6.4 DETERMINACIÓN DE LA ADENOSINA DESAMINASA

Principio de la determinación. La enzima adenosina desaminasa (ADA) transformó la adenosina a inosina y amoníaco, éste último en presencia de hipoclorito de sodio y una solución alcalina, produjo el compuesto azul de indofenol, esta reacción utilizó nitroprusiato de sodio como catalizador. La concentración de amoníaco fue directamente proporcional a la absorbancia del azul de indofenol.

6.4.1 PROCEDIMIENTO MANUAL

Se lleva a cabo la preparación de las soluciones reactivas tomando en cuenta las consideraciones de Giusti⁷⁵, ya que para esta determinación no existen reactivos comerciales. Así mismo, la actividad de ADA se determinó según este método, que se describe brevemente a continuación. Tanto la solución estándar como las muestras biológicas se trabajaron por duplicado de la siguiente forma: 25 μL de muestra o del estándar se incubaron con 500 μL de solución de adenosina en buffer de fosfatos, a 37°C durante 15 min. Posteriormente se adicionaron 1.5 mL de nitroprusiato fenólico y 1.5 mL de hipoclorito alcalino. Finalmente se midieron las absorbancias fotométricamente a 613 nm contra un blanco de agua destilada. La actividad de ADA se valoró en función de la absorbancia de la solución estándar cuya concentración era conocida, el cual además de utilizarse como estándar, funcionó como control interensayos.

6.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó la mediana y los percentiles 25 y 75 de la población estudiada, así como de los diferentes grupos que formaron a ésta. Dicho análisis se llevó a cabo utilizando el paquete Microsoft Excel 7.0 para Windows.

Se llevó a cabo el análisis de varianzas para determinar diferencias significativas entre grupos, utilizando la prueba de Kruskal-Wallis. Para definir cual grupo fue el que mostraba diferencia significativa se usó la prueba de Dunn. También se realizaron pruebas de correlación de Spearman, empleando el paquete Sigma Stat 2.0 de Jandel Scientific Software.

Los parámetros diagnósticos (PD) que incluyeron sensibilidad, especificidad y exactitud diagnósticas, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) se calcularon para cada uno de los marcadores en plasma y en líquido pleural, ver: Apéndice I. A partir de la sensibilidad y la especificidad diagnósticas, se construyeron curvas ROC (del inglés, Receiver Operator Characteristic Curve). En la elección del punto correspondiente al valor de corte (VC) se escogió el valor que estuviera lo más cercano posible al 100%, Apéndice II.

El cálculo de los PD en pruebas múltiples se realizó mediante las pruebas indicadas en el Apéndice III. Posteriormente, se estudiaron doce distintas posibilidades de relación de dos de estos marcadores con la finalidad de determinar su asociación a cualquiera de las patologías estudiadas. Asimismo, se analizó la combinación de tres marcadores que originó ocho relaciones, mismas que se asociaron a cualquiera de las patologías estudiadas.

Finalmente, se estudiaron distintas uniones de las asociaciones de estos marcadores con la finalidad de determinar si la unión mejoraba su poder diagnóstico relacionado con el cáncer pulmonar.

7. RESULTADOS

7.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

La mediana y los percentiles 25 y 75 para cada grupo estudiado se obtuvieron a partir de los valores de la actividad enzimática de la ADA, de la concentración de CEA y de Cyfra 21-1.

7.1.1 ADA

En *plasma*, el grupo control presentó una mediana de 14.9 UI/L con percentiles 25 y 75 que fueron 11.5 y 22.7 UI/L, respectivamente. El grupo de misceláneos tuvo una mediana de 24.3 UI/L y sus percentiles 25 y 75 fueron 20.4 y 34.4 UI/L. En el grupo de tuberculosis la mediana fue de 41.0 UI/L y los percentiles 25 y 75 fueron 34.7 y 53.5 UI/L. El grupo de cáncer mostró una mediana de 17.9 UI/L y los percentiles 25 y 75 fueron 11.7 y 25.6 UI/L, como se observa en la Figura 4 y Tabla II. La actividad de ADA en el grupo de tuberculosis se encontró incrementada al compararla con el grupo de cáncer ($p \leq 0.001$) y con el grupo de controles sanos ($p \leq 0.001$), Figura 4.

En el *líquido pleural*, la mediana para el grupo de misceláneos fue de 25.1 UI/L con percentiles 25 y 75 que fueron 10.4 y 44.1 UI/L, respectivamente. La mediana del grupo de tuberculosis fue 126.2 UI/L y los percentiles 25 y 75 fueron 109.5 y 153.8 UI/L. En el grupo de cáncer se encontró una mediana de 22.6 UI/L y los percentiles 25 y 75 fueron 13.1 y 29.3 UI/L, ver Tabla III. La actividad de ADA en el grupo de tuberculosis se encontró incrementada al compararla con el grupo de cáncer ($p \leq 0.001$) y con el grupo de misceláneos ($p \leq 0.001$), Figura 4.

7.1.2 CEA

En el *plasma*, el grupo control presentó una mediana de 1.1 ng/mL con percentiles 25 y 75 que fueron 0.5 y 1.7 ng/mL, respectivamente. El grupo de misceláneos tuvo una mediana de 1.5 ng/mL y sus percentiles 25 y 75 fueron 1.2 y 3.1 ng/mL. En el grupo de tuberculosis la mediana fue de 2.0 ng/mL y los percentiles 25 y 75 fueron 1.3 y 2.8 ng/mL. El grupo de cáncer mostró una mediana de 3.1 ng/mL y los percentiles 25 y 75 fueron 1.1 y 11.0 ng/mL,

como se observa en la Figura 5 y Tabla II. La concentración de CEA en el grupo de cáncer se encontró incrementada al compararla con el grupo de controles sanos ($p \leq 0.001$), pero no se encontró diferencias significativas entre el grupo de cáncer respecto a los grupos: tuberculosis y misceláneos, Figura 5.

En el *liquido pleural*, se encontró una mediana para el grupo de misceláneos de 1.0 ng/mL con percentiles 25 y 75 que fueron 0.4 y 1.5 ng/mL, respectivamente. La mediana del grupo de tuberculosis fue 1.3 ng/mL y los percentiles 25 y 75 fueron 0.7 y 1.9 ng/mL. En el grupo de cáncer se encontró una mediana de 13.2 ng/mL con percentiles 25 y 75 que variaron de 0.7 y 201.0 ng/mL, ver Tabla III. La concentración de CEA en el grupo de cáncer se encontró incrementada al compararla con el grupo de tuberculosis ($p \leq 0.001$) y con el grupo de misceláneos ($p \leq 0.001$), Figura 5.

Además, el grupo de tuberculosis mostró correlación positiva en la concentración de CEA presente en *liquido pleural* respecto al *plasma* con $r = 0.84645$ y $p < 1 \times 10^{-5}$.

En el grupo de cáncer, se encontró una correlación positiva en la concentración de CEA presente en *liquido pleural* respecto al *plasma* con $r = 0.84606$ y $p < 1 \times 10^{-5}$.

7.1.3 CYFRA 21-1

En el *plasma*, el grupo control presentó una mediana de 1.2 ng/mL con percentiles 25 y 75 que fueron 1.0 y 1.4 ng/mL, respectivamente. El grupo de misceláneos tuvo una mediana de 1.8 ng/mL y sus percentiles 25 y 75 fueron 1.4 y 3.2 ng/mL. En el grupo de tuberculosis la mediana fue de 1.2 ng/mL y los percentiles 25 y 75 fueron 0.9 y 2.1 ng/mL. El grupo de cáncer mostró una mediana de 4.2 ng/mL y los percentiles 25 y 75 fueron 2.0 y 14.6 ng/mL como se observa en la Figura 6 y Tabla II. La concentración de Cyfra 21-1 en el grupo de cáncer se encontró incrementada al compararla con el grupo de tuberculosis ($p \leq 0.001$) y con el grupo de controles sanos ($p \leq 0.001$), Figura 6.

En el *liquido pleural*, se encontró una mediana para el grupo de misceláneos de 9.8 ng/mL con percentiles 25 y 75 que fueron 4.6 y 33.3 ng/mL, respectivamente. La mediana del grupo de tuberculosis fue 17.8 ng/mL y los percentiles 25 y 75 fueron 8.1 y 29.1 ng/mL. En el grupo de cáncer se encontró una mediana de 61.6 ng/mL con percentiles 25 y 75 que

variaron de 19.9 y 169.5 ng/mL, ver Tabla III. No se encontró diferencias significativas entre estos grupos, Figura 6.

En el grupo de tuberculosis, la concentración de Cyfra 21-1 presente en el *líquido pleural* se encontró incrementada al compararla con el *plasma* ($p \leq 0.001$), Figura 6.

En el grupo de cáncer, la concentración de Cyfra 21-1 presente en el *líquido pleural* se encontró incrementada al compararla con el *plasma* ($p \leq 0.001$, $r = 0.5599$ y $p < 1 \times 10^{-5}$), Figura 6.

7.1.4 CORRELACIÓN ENTRE CYFRA 21-1, CEA Y ADA

Para establecer si existía relación entre los tres marcadores para los diferentes grupos estudiados tanto en *plasma* como en *líquido pleural*, se hicieron comparaciones pares de la siguiente manera: a) se compararon los diferentes grupos por marcador para una misma muestra biológica, b) se compararon las muestras biológicas por marcador para un mismo grupo y c) se compararon los tres diferentes marcadores por grupo para una muestra biológica

En general, los coeficientes de correlación para dichas comparaciones fueron muy pequeños y/o los valores de p muy grandes, excepto para los siguientes:

En el *líquido pleural* del grupo de tuberculosis se observó una correlación negativa entre la concentración de CEA y la actividad de ADA con $r = -0.6237$ y $p = 0.0026$. En el *plasma* de este mismo grupo, se encontró una correlación positiva entre la concentración de Cyfra 21-1 y CEA con $r = 0.60084$ y $p = 0.0040$.

7.1.5 RELACIÓN ENTRE TIPOS HISTOLÓGICOS

En los tipos histológicos de cáncer pulmonar analizados no existió diferencia significativa en ninguno de los marcadores empleados, tanto a nivel plasmático como pleural.

Por otro lado, se observó una correlación positiva de los valores del marcador CEA entre el *plasma* y el *líquido pleural* para adenocarcinomas con $r = 0.82431$ y $p < 1 \times 10^{-5}$.

7.2 PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS

7.2.1 ADA

Para el grupo de tuberculosis, el percentil 25% de este marcador fue superior a los percentiles 75% de los otros grupos estudiados tanto en *plasma* (grupos control, misceláneos y cáncer) como en *líquido pleural* (grupos misceláneos y cáncer), Tablas II y III. Por lo que se calcularon los **PD de este marcador asociados a tuberculosis**.

En el *plasma*, a partir de la curva ROC se seleccionó el VC de 31.50 UI/L que mostró sensibilidad diagnóstica del 89.47% y especificidad diagnóstica del 86.60%. La exactitud asociada al diagnóstico de tuberculosis fue del 87.07%, el VPP fue del 56.67% y el VPN fue del 97.67%, Tabla IV. El VC seleccionado incluyó 89% (17/19) de pacientes con tuberculosis y excluyó sólo al 11% (2/19) de pacientes de este mismo grupo; además, excluyó 74% (14/19) de pacientes misceláneos, 87% (53/61) de pacientes con cáncer y 94% (17/18) de individuos del grupo control.

En el *líquido pleural*, a partir de la curva ROC se seleccionó el VC de 75.36 UI/L que mostró sensibilidad diagnóstica del 90.91% y especificidad diagnóstica del 96.25%, Figura 7. La exactitud asociada al diagnóstico de tuberculosis fue del 95.10%, el VPP fue del 86.96% y el VPN fue del 97.47%, Tabla V. El VC seleccionado incluyó 91% (20/22) de pacientes con tuberculosis y excluyó sólo al 9% (2/22) de pacientes de este mismo grupo; además, excluyó 95% (18/19) de pacientes misceláneos y 95% (59/62) de pacientes con cáncer.

7.2.2 CEA

Para el grupo de cáncer, la mediana de este marcador fue superior a las medianas de los otros grupos estudiados tanto en *plasma* (grupos control, misceláneos y tuberculosis) como en *líquido pleural* (grupos misceláneos y tuberculosis), Tablas II y III. Por lo que se calcularon los **PD de este marcador asociados a cáncer**.

En el *plasma*, a partir de la curva ROC se seleccionó el VC de 1.98 ng/mL que mostró sensibilidad diagnóstica del 60.32% y especificidad diagnóstica del 67.80%. La exactitud asociada al diagnóstico de cáncer fue del 63.93%, el VPP fue del 66.67% y el VPN fue del

61.54%, Tabla IV. El VC seleccionado incluyó 60% (38/63) de pacientes con cáncer y excluyó 40% (25/63) de pacientes de este mismo grupo; además, excluyó 48% (10/21) de pacientes con tuberculosis, 68% (13/19) de pacientes misceláneos y 89% (17/19) de individuos del grupo control.

En el *líquido pleural*, a partir de la curva ROC se seleccionó el VC de 4.41 ng/mL que mostró sensibilidad diagnóstica del 57.14% y especificidad diagnóstica del 100.00%. La exactitud asociada al diagnóstico de cáncer fue del 73.79 %, el VPP fue del 100.00% y el VPN fue del 59.70%, Tabla V. El VC seleccionado incluyó 58% (36/62) de pacientes con cáncer y excluyó 42% (26/62) de pacientes de este mismo grupo; además, excluyó 100% (21/21) de pacientes con tuberculosis y 100% (19/19) de pacientes misceláneos.

7.2.3 CYFRA 21-1

Para el grupo de cáncer, la mediana de este marcador fue superior a las medianas de los otros grupos estudiados tanto en *plasma* (grupos control, misceláneos y tuberculosis) como en *líquido pleural* (grupos misceláneos y tuberculosis), Tablas II y III. Por lo que se calcularon los **PD de este marcador asociados a cáncer**.

En el *plasma*, a partir de la curva ROC se seleccionó el VC de 1.93 ng/mL que mostró sensibilidad diagnóstica del 80.65% y especificidad diagnóstica del 71.67%. La exactitud asociada al diagnóstico de cáncer fue del 76.23%, el VPP fue del 74.63% y el VPN fue del 78.18%, Tabla IV. El VC seleccionado incluyó 79% (50/63) de pacientes con cáncer y excluyó 21% (13/63) pacientes de este mismo grupo; además, excluyó 68% (15/22) de pacientes con tuberculosis, 53% (10/19) de pacientes misceláneos y 95% (18/19) de individuos del grupo control.

En el *líquido pleural*, a partir de la curva ROC se seleccionó el VC de 24.52 ng/mL que mostró sensibilidad diagnóstica del 73.02% y especificidad diagnóstica del 71.79%. La exactitud asociada al diagnóstico de cáncer fue del 72.55%, el VPP fue del 80.70% y el VPN fue del 62.22%, Tabla V. El VC seleccionado incluyó 73% (46/63) de pacientes con cáncer y excluyó 27% (17/63) de pacientes de este mismo grupo; además, excluyó 68% (15/22) de pacientes con tuberculosis y 72% (13/18) de pacientes misceláneos.

7.3 PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS PARA PRUEBAS MÚLTIPLES

7.3.1 ASOCIACIÓN ENTRE DOS MARCADORES

Se analizaron doce distintas posibilidades de relación entre dos marcadores, con la finalidad de determinar su asociación a cualquiera de las patologías estudiadas.

7.3.1.1 ASOCIACIÓN ENTRE DOS MARCADORES EN PLASMA

Esta asociación se resume en la Tabla VI, que a continuación se describe.

a) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 50.79%, especificidad de 79.31%, exactitud de 64.46%, VPP de 72.73% y VPN de 59.74% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos del grupo control, pero incluyó al 28% (5/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 33% (7/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 51% (32/63) de los pacientes del grupo de cáncer.

b) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 11.11%, especificidad de 41.38%, exactitud de 25.62%, VPP de 17.07% y VPN de 30.00% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 84% (16/19) de los individuos del grupo control, al 44% (8/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 48% (10/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 11% (7/63) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

c) La asociación del marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC y del marcador CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 28.57%, especificidad de 91.38%, exactitud de 58.68%, VPP de 78.26% y VPN de 54.08% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 5% (1/19) de los individuos del grupo control, al 22% (4/18) de los pacientes del grupo de misceláneos y al 29% (18/63) de los pacientes del grupo de cáncer, pero no incluyó a los pacientes del grupo de tuberculosis.

d) La asociación del marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC y del marcador CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 9.52%, especificidad de 87.93%, exactitud de 47.11%,

VPP de 46.15% y VPN de 47.22% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 11% (2/19) de los individuos del grupo control, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 19% (4/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 10% (6/63) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

e) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por arriba del VC mostró sensibilidad de 11.48%, especificidad de 83.64%, exactitud de 45.69%, VPP de 43.75% y VPN de 46.00% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 6% (1/18) de los individuos del grupo control, al 17% (3/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 26% (5/19) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 11% (7/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

f) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por abajo del VC mostró sensibilidad de 19.67%, especificidad de 52.73%, exactitud de 35.34%, VPP de 31.58% y VPN de 37.18% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 94% (17/18) de los individuos del grupo control, al 44% (8/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 5% (1/19) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 20% (12/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

g) La asociación del marcador ADA por arriba del VC y del marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC mostró sensibilidad de 1.64%, especificidad de 76.36%, exactitud de 37.07%, VPP de 7.14% y VPN de 41.18% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos del grupo control, pero incluyó al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 63% (12/19) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 2% (1/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

h) La asociación del marcador ADA por abajo del VC y del marcador Cyfra por arriba del VC mostró sensibilidad de 67.21%, especificidad de 87.27%, exactitud de 76.72%, VPP de 85.42% y VPN de 70.59% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos del grupo control, pero incluyó al 33% (6/18) de los pacientes del

grupo de misceláneos, al 5% (1/19) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 67% (41/61) de los pacientes del grupo de cáncer.

i) La asociación de los marcadores ADA y CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 4.92%, especificidad de 81.48%, exactitud de 40.87%, VPP de 23.08% y VPN de 43.14% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos del grupo control, pero incluyó al 11% (2/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 44% (8/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 5% (3/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

j) La asociación de los marcadores ADA y CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 32.79%, especificidad de 51.85%, exactitud de 41.74%, VPP de 43.48% y VPN de 40.58% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 83% (15/18) de los individuos del grupo control, al 56% (10/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 33% (20/61) de los pacientes del grupo de cáncer.

k) La asociación del marcador ADA por arriba del VC y del marcador CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 8.20%, especificidad de 79.63%, exactitud de 41.74%, VPP de 31.25% y VPN de 43.43% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 6% (1/18) de los individuos del grupo control, al 11% (2/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 44% (8/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 8% (5/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

l) La asociación del marcador ADA por abajo del VC y del marcador CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 54.10%, especificidad de 87.04%, exactitud de 69.57%, VPP de 82.50% y VPN de 62.67% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 11% (2/18) de los individuos del grupo control, al 22% (4/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 54% (33/61) de los pacientes del grupo de cáncer.

7.3.1.2 ASOCIACIÓN ENTRE DOS MARCADORES EN LÍQUIDO PLEURAL

Los resultados de dicha asociación se expresan en la Tabla VII, y a continuación se describen.

a) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 48.39%, especificidad de 100%, exactitud de 68.00%, VPP de 100% y VPN de 54.29% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y tuberculosis, pero incluyó al 48% (30/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

b) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 16.13%, especificidad de 26.32%, exactitud de 20.00%, VPP de 26.32% y VPN de 16.13% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 76% (13/17) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 71% (15/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 16% (10/62) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

c) La asociación del marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC y del marcador CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 25.81%, especificidad de 73.68%, exactitud de 44.00%, VPP de 61.54% y VPN de 37.84% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 24% (4/17) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 29% (6/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 26% (16/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

d) La asociación del marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC y del marcador CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 9.68%, especificidad de 100.00%, exactitud de 44.00%, VPP de 100.00% y VPN de 40.43% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y tuberculosis, pero incluyó al sólo 10% (6/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

e) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por arriba del VC mostró sensibilidad de 4.84%, especificidad de 84.62%, exactitud de 35.64%, VPP de 33.33% y VPN de 35.87% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes del grupo de misceláneos, pero incluyó al 27% (6/22) de los pacientes del grupo

de tuberculosis y al 5% (3/62) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

f) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por abajo del VC mostró sensibilidad de 25.81%, especificidad de 64.10%, exactitud de 40.59%, VPP de 53.33% y VPN de 35.21% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 76% (13/17) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 5% (1/22) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 26% (16/22) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

g) La asociación del marcador ADA por arriba del VC y del marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC mostró sensibilidad de 0%, especificidad de 64.10%, exactitud de 24.75%, VPP de 0% y VPN de 28.74% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 64% (14/22) de los pacientes del grupo de tuberculosis, pero no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

h) La asociación del marcador ADA por abajo del VC y del marcador Cyfra por arriba del VC mostró sensibilidad de 69.35%, especificidad de 87.18%, exactitud de 76.24%, VPP de 89.58% y VPN de 64.15% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 24% (4/17) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 5% (1/22) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 69% (43/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

i) La asociación de los marcadores ADA y CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 3.23%, especificidad de 100%, exactitud de 40.59%, VPP de 100% y VPN de 39.39% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y tuberculosis, pero incluyó al 3% (2/62) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

j) La asociación de los marcadores ADA y CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 40.32%, especificidad de 48.72%, exactitud de 43.56%, VPP de 55.56% y VPN de 33.93% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 100% (18/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 10% (2/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 40% (25/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

k) La asociación del marcador ADA por arriba del VC y del marcador CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 1.61%, especificidad de 51.28%, exactitud de 20.79%, VPP de 5.00% y VPN de 24.69% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes del grupo de misceláneos, pero incluyó al 90% (19/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 2% (1/62) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

l) La asociación del marcador ADA por abajo del VC y del marcador CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 54.84%, especificidad de 100%, exactitud de 72.28%, VPP de 100% y VPN de 58.21% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y tuberculosis, pero incluyó al 55% (34/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

7.3.2 ASOCIACIÓN ENTRE TRES MARCADORES

La combinación de tres marcadores origina ocho relaciones, las que se asociaron a cualquiera de las patologías estudiadas.

7.3.2.1 ASOCIACIÓN ENTRE TRES MARCADORES EN PLASMA

En la Tabla VI se indica dicha asociación, la cual se describe a continuación:

a) La asociación de los marcadores ADA, Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 4.92%, especificidad de 87.04%, exactitud de 43.48%, VPP de 30.00% y VPN de 44.76% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos del grupo control, pero incluyó al 11% (2/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 28% (5/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 5% (3/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

b) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por arriba del VC y marcador CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 6.56%, especificidad de 96.30%, exactitud de 48.70%, VPP de 66.67% y VPN de 47.71% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes del grupo de tuberculosis, pero incluyó al 6% (1/18)

de los individuos del grupo control, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de misceláneos y al 7% (4/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

c) La asociación de los marcadores ADA y CEA por arriba del VC y marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC mostró sensibilidad de 0%, especificidad de 94.44%, exactitud de 44.35%, VPP de 0% y VPN de 45.54% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 17% (3/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis, pero no incluyó a los individuos de los grupos: control, misceláneos y cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

d) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por abajo del VC y marcador ADA por arriba del VC mostró sensibilidad de 1.64%, especificidad de 83.33%, exactitud de 40.00%, VPP de 10.00% y VPN de 42.86% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos del grupo control, pero incluyó al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 44% (8/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 2% (1/61) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

e) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC y marcador ADA por abajo del VC mostró sensibilidad de 44.26%, especificidad de 92.59%, exactitud de 66.96%, VPP de 87.10% y VPN de 59.52% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos del grupo control, pero incluyó al 17% (3/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 44% (27/61) de los pacientes del grupo de cáncer.

f) La asociación de los marcadores ADA y CEA por abajo del VC y marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC mostró sensibilidad de 22.95%, especificidad de 94.44%, exactitud de 56.52%, VPP de 82.35% y VPN de 52.04% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los individuos de los grupos: control y tuberculosis, pero incluyó al 17% (3/18) de los pacientes del grupo de misceláneos y al 23% (14/61) de los pacientes del grupo de cáncer.

g) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por abajo del VC y marcador CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 9.84%, especificidad de 94.44%, exactitud

de 49.57%, VPP de 66.67% y VPN de 48.11% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 11% (2/18) de los individuos del grupo control, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de misceláneos y al 10% (6/61) de los pacientes del grupo de cáncer, pero no incluyó a los pacientes del grupo de tuberculosis.

h) La asociación de los marcadores ADA, Cyfra 21-1 y CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 9.84%, especificidad de 57.41%, exactitud de 32.17%, VPP de 20.69% y VPN de 36.05% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 83% (15/18) de los individuos del grupo control, al 39% (7/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 10% (6/61) de los pacientes del grupo de cáncer.

7.3.2.2 ASOCIACIÓN ENTRE TRES MARCADORES EN LÍQUIDO PLEURAL

La Tabla VII muestra esta asociación que se describe a continuación:

a) La asociación de los marcadores ADA, Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 3.23%, especificidad de 100%, exactitud de 40.00%, VPP de 100% y VPN de 38.78% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: de misceláneos y tuberculosis, pero incluyó al 3% (2/62) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

b) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por arriba del VC y marcador CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 1.61%, especificidad de 86.84%, exactitud de 34.00%, VPP de 16.67% y VPN de 35.11% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes del grupo de misceláneos, pero incluyó al 24% (5/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 2% (1/62) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

c) La asociación de los marcadores ADA y CEA por arriba del VC y marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC mostró sensibilidad de 0%, especificidad de 100%, exactitud de 38.00% y VPN de 38.00% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos, tuberculosis y cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

d) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por abajo del VC y marcador ADA por arriba del VC mostró sensibilidad de 0%, especificidad de 63.16%, exactitud de 24.00%, VPP de 0% y VPN de 27.91% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 67% (14/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis, pero no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y cáncer.

e) La asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC y marcador ADA por abajo del VC mostró sensibilidad de 45.16%, especificidad de 100%, exactitud de 66.00%, VPP de 100% y VPN de 52.78% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y tuberculosis, pero incluyó al 45% (28/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

f) La asociación de los marcadores ADA y CEA por abajo del VC y marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC mostró sensibilidad de 24.19%, especificidad de 86.84%, exactitud de 48.00%, VPP de 75.00% y VPN de 41.25% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 24% (4/17) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 5% (1/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 24% (15/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

g) La asociación de los marcadores ADA y Cyfra 21-1 por abajo del VC y marcador CEA por arriba del VC mostró sensibilidad de 9.68%, especificidad de 100%, exactitud de 44.00%, VPP de 100% y VPN de 40.43% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación no incluyó a los pacientes de los grupos: misceláneos y tuberculosis, y sólo incluyó al 10% (6/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

h) La asociación de los marcadores ADA, Cyfra 21-1 y CEA por abajo del VC mostró sensibilidad de 16.13%, especificidad de 63.16%, exactitud de 34.00%, VPP de 41.67% y VPN de 31.68% para el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esta asociación incluyó al 76% (13/17) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 5% (1/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 16% (10/62) de los pacientes del grupo de cáncer, lo que denota su baja utilidad diagnóstica para diferenciar a este último grupo.

7.3.3 UNIÓN DE ASOCIACIONES

Se estudiaron distintas uniones de asociaciones de estos marcadores con la finalidad de determinar si la unión mejoraba su poder diagnóstico relacionado con el cáncer pulmonar.

7.3.3.1 UNIÓN DE ASOCIACIONES EN PLASMA

Estos resultados se muestran en la Tabla VIII y se describen a continuación:

a) La unión de las asociaciones: marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC o marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC y marcador CEA por abajo del VC o marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC y marcador CEA por arriba del VC, mostró una sensibilidad de 88.89%, una especificidad de 58.62%, una exactitud de 74.38%, un VPP de 70.00% y un VPN de 82.93%. Esta unión incluyó al 16% (3/19) de los individuos del grupo control, al 56% (10/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 52% (11/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 89% (56/63) de los pacientes del grupo de cáncer.

b) La unión de las asociaciones: marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC y marcador ADA por abajo del VC o marcadores ADA y CEA por abajo del VC y marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC o marcadores ADA y Cyfra 21-1 por abajo del VC y marcador CEA por arriba del VC, mostró una sensibilidad de 77.05%, una especificidad de 81.48%, una exactitud de 79.13%, un VPP de 82.46% y un VPN de 75.86%. Esta unión incluyó al 11% (2/18) de los individuos del grupo control, al 39% (7/18) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 6% (1/18) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 77% (47/61) de los pacientes del grupo de cáncer.

7.3.3.2 UNIÓN DE ASOCIACIONES EN LÍQUIDO PLEURAL

Se indica en la Tabla VIII la unión de asociaciones, las cuales se describen a continuación:

a) La unión de las asociaciones: marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC o marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC y marcador CEA por abajo del VC o marcador Cyfra 21-1 por abajo del VC y marcador CEA por arriba del VC, mostró una sensibilidad de 83.87%, una especificidad de 73.68%, una exactitud de 80.00%, un VPP de 83.87% y un VPN de 73.68%. Esta unión incluyó al 24% (4/17) de los pacientes del grupo de

misceláneos, al 29% (6/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 84% (52/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

b) La unión de las asociaciones: marcadores Cyfra 21-1 y CEA por arriba del VC y marcador ADA por abajo del VC o marcadores ADA y CEA por abajo del VC y marcador Cyfra 21-1 por arriba del VC o marcadores ADA y Cyfra 21-1 por abajo del VC y marcador CEA por arriba del VC, mostró una sensibilidad de 79.03%, una especificidad de 86.84%, una exactitud de 82.00%, un VPP de 90.74% y un VPN de 71.74%. Esta unión incluyó al 24% (4/17) de los pacientes del grupo de misceláneos, al 5% (1/21) de los pacientes del grupo de tuberculosis y al 79% (49/62) de los pacientes del grupo de cáncer.

Tabla I. Población de estudio.

	Hombres	Mujeres	Total de individuos
No. de sujetos (intervalo de edad)	88 (22-90)	35 (23-79)	123 (22-90)
Derrames de origen maligno	43	20	63
Adenocarcinomas	29	18	47
Carcinoma de células grandes	3	0	3
Mesoteliomas	5	1	6
Carcinoma epidermoide	1	0	1
Carcinoma de células pequeñas	5	1	6
Derrames de origen no maligno	34	7	41
Tuberculosis	19	3	22
Misceláneas	15	4	19
Controles sanos	11	8	19

Tabla II. Niveles de Cyfra 21-1, CEA y ADA en el plasma de los diferentes grupos en estudio.

Marcador	Control	Misceláneos	Tuberculosis	Cáncer
ADA (UI/L)	14.9 (11.5-22.7)*	24.3 (20.4-34.4)	41.0 (34.7-53.5)	17.9 (11.7-25.6)
CEA (ng/mL)	1.1 (0.5-1.7)	1.5 (1.2-3.1)	2.0 (1.3-2.8)	3.1 (1.1-11.0)
Cyfra 21-1 (ng/mL)	1.2 (1.0-1.4)	1.8 (1.4-3.2)	1.2 (0.9-2.1)	4.2 (2.0-14.6)

8 * Percentiles 25 y 75.

Tabla III. Niveles de Cyfra 21-1, CEA y ADA en el líquido pleural de los diferentes grupos estudiados.

Marcador	Misceláneos	Tuberculosis	Cáncer
ADA (UI/L)	25.1 (10.4-44.1)*	126.2 (109.5-153.8)	22.6 (13.1-29.3)
CEA (ng/mL)	1.0 (0.4-1.5)	1.3 (0.7-1.9)	13.2 (0.7-201.0)
Cyfra 21-1 (ng/mL)	9.8 (4.6-33.3)	17.8 (8.1-29.1)	61.6 (19.9-169.5)

* Percentiles 25 y 75.

Tabla IV. Valores de corte y parámetros diagnósticos en plasma.

Marcador	VC	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Exactitud (%)	VPP (%)	VPN (%)	Asociado a
ADA	31.50 (UI/L)	89.47	86.60	87.07	56.67	97.67	Tb.
CEA	1.98 (ng/mL)	60.32	67.80	63.93	66.67	61.54	Cáncer Pulmonar
Cyfra 21-1	1.93 (ng/mL)	80.65	71.67	76.23	74.63	78.18	

Tabla V. Valores de corte y parámetros diagnósticos en líquido pleural.

Marcador	VC	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Exactitud (%)	VPP (%)	VPN (%)	Asociado a
ADA	75.36 (UI/L)	90.91	96.25	95.10	86.96	97.47	Tb.
CEA	4.41 (ng/mL)	57.14	100.00	73.79	100.00	59.70	Cáncer Pulmonar
Cyfra 21-1	24.52 (ng/mL)	73.02	71.79	72.55	80.70	62.22	

Tabla VI. Parámetros diagnósticos de la asociación entre dos y tres marcadores en plasma, sugerentes de cáncer pulmonar.

Asociación	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Exactitud (%)	VPP (%)	VPN (%)	Asociado a
CYFRA(+), CEA(+)	50.79	79.31	64.46	72.73	59.74	Cáncer
CYFRA(-), CEA(-)	11.11	41.38	25.62	17.07	30.00	
CYFRA(+), CEA(-)	28.57	91.38	58.68	78.26	54.08	
CYFRA(-), CEA(+)	9.52	87.93	47.11	46.15	47.22	
ADA(+), CYFRA(+)	11.48	83.64	45.69	43.75	46.00	
ADA(-), CYFRA(-)	19.67	52.73	35.34	31.58	37.18	
ADA(+), CYFRA(-)	1.64	76.36	37.07	7.14	41.18	
ADA(-), CYFRA(+)	67.21	87.27	76.72	85.42	70.59	
ADA(+), CEA(+)	4.92	81.48	40.87	23.08	43.14	
ADA(-), CEA(-)	32.79	51.85	41.74	43.48	40.58	
ADA(+), CEA(-)	8.20	79.63	41.74	31.25	43.43	
ADA(-), CEA(+)	54.10	87.04	69.57	82.50	62.67	
ADA(+), CYFRA(+), CEA(+)	4.92	87.04	43.48	30.00	44.76	Pulmonar
ADA(+), CYFRA(+), CEA(-)	6.56	96.30	48.70	66.67	47.71	
ADA(+), CYFRA(-), CEA(+)	0	94.44	44.35	0	45.54	
ADA(+), CYFRA(-), CEA(-)	1.64	83.33	40.00	10.00	42.86	
ADA(-), CYFRA(+), CEA(+)	44.26	92.59	66.96	87.10	59.52	
ADA(-), CYFRA(+), CEA(-)	22.95	94.44	56.52	82.35	52.04	
ADA(-), CYFRA(-), CEA(+)	9.84	94.44	49.57	66.67	48.11	
ADA(-), CYFRA(-), CEA(-)	9.84	57.41	32.17	20.69	36.05	

(+) prueba positiva, valor mayor o igual al valor de corte

⊗ (-) prueba negativa, valor menor al valor de corte

Tabla VII. Parámetros diagnósticos de la asociación entre dos y tres marcadores en líquido pleural, sugerentes de cáncer pulmonar.

Asociación	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Exactitud (%)	VPP (%)	VPN (%)	Asociado a
CYFRA(+), CEA(+)	48.39	100	68.00	100	54.29	Cáncer
CYFRA(-), CEA(-)	16.13	26.32	20.00	26.32	16.13	
CYFRA(+), CEA(-)	25.81	73.68	44.00	61.54	37.84	
CYFRA(-), CEA(+)	9.68	100	44.00	100	40.43	
ADA(+), CYFRA(+)	4.84	84.62	35.64	33.33	35.87	
ADA(-), CYFRA(-)	25.81	64.10	40.59	53.33	35.21	
ADA(+), CYFRA(-)	0	64.10	24.75	0	28.74	
ADA(-), CYFRA(+)	69.35	87.18	76.24	89.58	64.15	
ADA(+), CEA(+)	3.23	100	40.59	100	39.39	
ADA(-), CEA(-)	40.32	48.72	43.56	55.56	33.93	
ADA(+), CEA(-)	1.61	51.28	20.79	5.00	24.69	
ADA(-), CEA(+)	54.84	100	72.28	100	58.21	Pulmonar
ADA(+), CYFRA(+), CEA(+)	3.23	100	40.00	100	38.78	
ADA(+), CYFRA(+), CEA(-)	1.61	86.84	34.00	16.67	35.11	
ADA(+), CYFRA(-), CEA(+)	0	100	38.00	i	38.00	
ADA(+), CYFRA(-), CEA(-)	0	63.16	24.00	0	27.91	
ADA(-), CYFRA(+), CEA(+)	45.16	100	66.00	100	52.78	
ADA(-), CYFRA(+), CEA(-)	24.19	86.84	48.00	75.00	41.25	
ADA(-), CYFRA(-), CEA(+)	9.68	100	44.00	100	40.43	
ADA(-), CYFRA(-), CEA(-)	16.13	63.16	34.00	41.67	31.58	

(+) prueba positiva, valor mayor o igual al valor de corte

(-) prueba negativa, valor menor al valor de corte

i: indeterminado

Tabla VIII. Parámetros diagnósticos de la unión de asociaciones, sugerentes de cáncer pulmonar.

Asociación	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Exactitud (%)	VPP (%)	VPN (%)	Asociado a	
En plasma:							
CYFRA(+), CEA(+) ó CYFRA(-), CEA(+) ó CYFRA(+), CEA(-)	88.89	58.62	74.38	70.00	82.93	Cáncer Pulmonar	
ADA(-), CYFRA(+), CEA(+) ó ADA(-), CYFRA(-), CEA(+) ó ADA(-), CYFRA(+), CEA(-)	77.05	81.48	79.13	82.46	75.86		
En líquido pleural:							
CYFRA(+), CEA(+) ó CYFRA(-), CEA(+) ó CYFRA(+), CEA(-)	83.87	73.68	80.00	83.87	73.68		
ADA(-), CYFRA(+), CEA(+) ó ADA(-), CYFRA(-), CEA(+) ó ADA(-), CYFRA(+), CEA(-)	79.03	86.84	82.00	90.74	71.74		

(+) prueba positiva, valor mayor o igual al valor de corte

(-) prueba negativa, valor menor al valor de corte

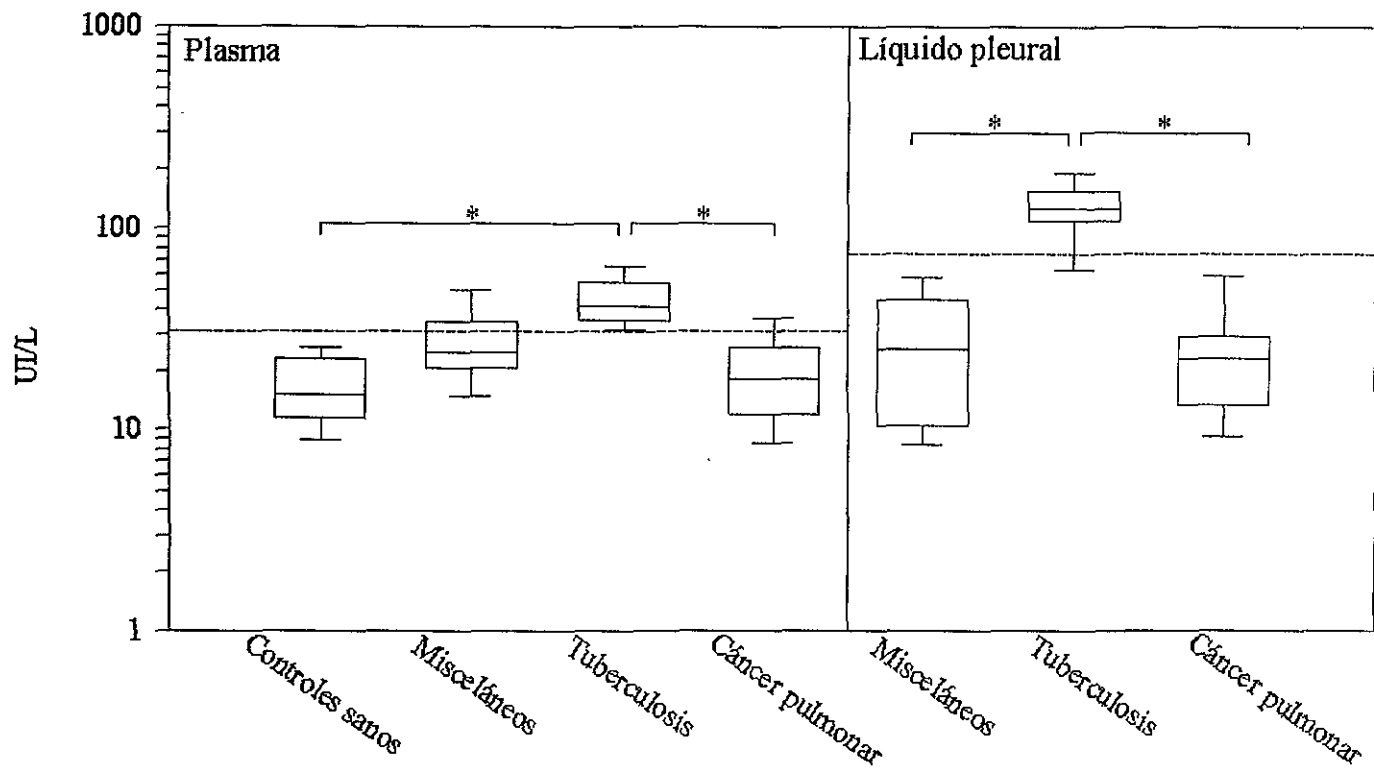


Figura 4. Distribución de la actividad del marcador ADA en plasma y en líquido pleural para los grupos estudiados. El valor de corte se representa por la línea discontinua. La mediana se indican por la línea dentro del rectángulo. Los percentiles 75 y 25 se indican por los límites superior e inferior del rectángulo. Los percentiles 90 y 10 se indican por los extremos fuera del rectángulo. * $p \leq 0.001$.

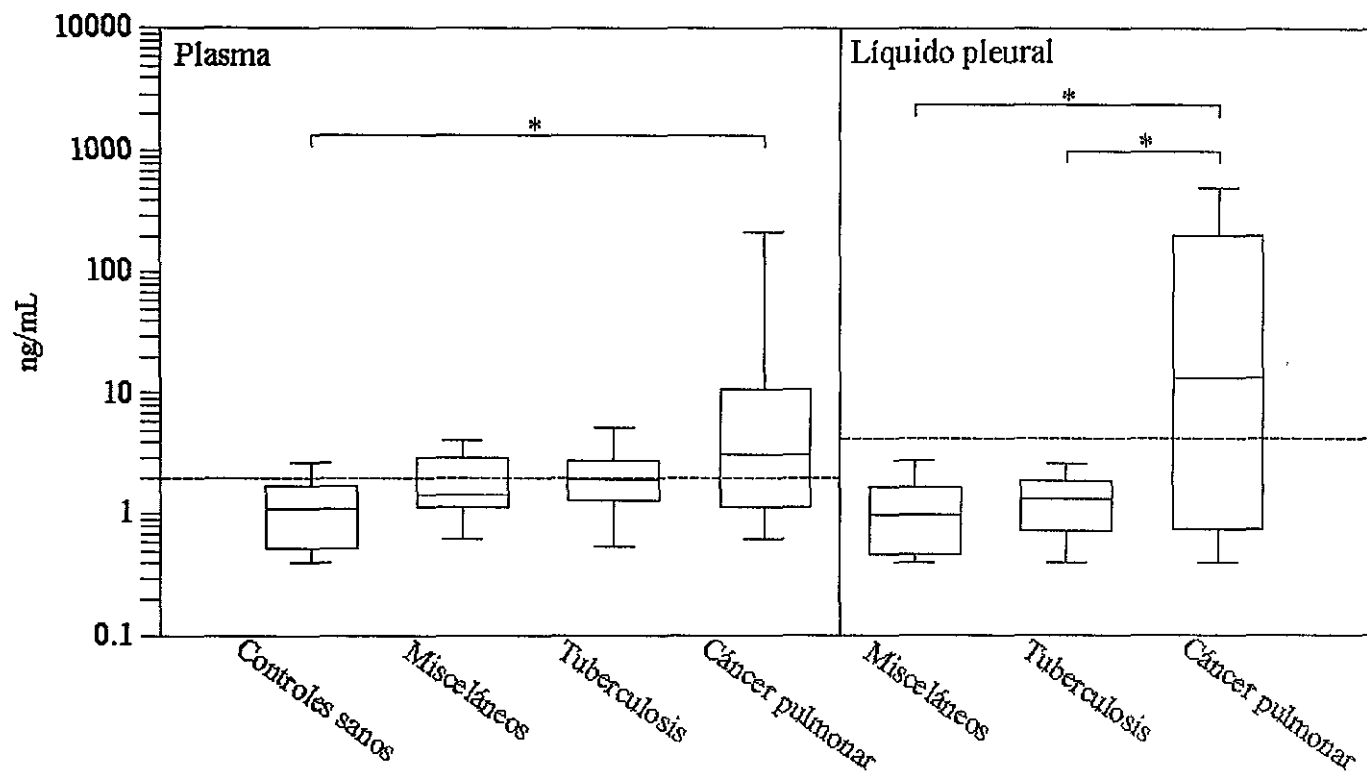


Figura 5. Distribución de la concentración del marcador CEA en plasma y en líquido pleural para los grupos estudiados. El valor de corte se representa por la línea discontinua. La mediana se indican por la línea dentro del rectángulo. Los percentiles 75 y 25 se indican por los límites superior e inferior del rectángulo. Los percentiles 90 y 10 se indican por los extremos fuera del rectángulo. * $p \leq 0.001$.

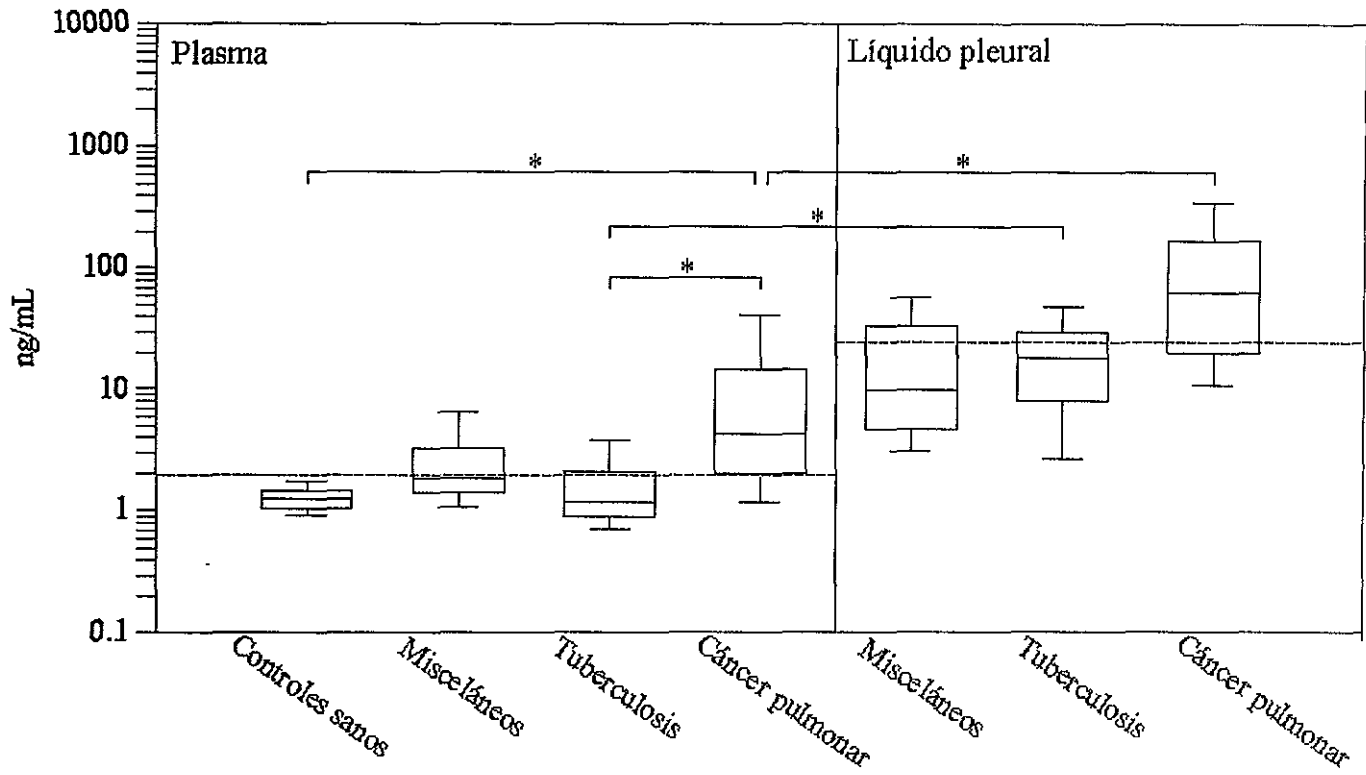


Figura 6. Distribución de la concentración del marcador Cyfra 21-1 en plasma y en líquido pleural para los grupos estudiados. El valor de corte se representa por la línea discontinua. La mediana se indican por la línea dentro del rectángulo. Los percentiles 75 y 25 se indican por los límites superior e inferior del rectángulo. Los percentiles 90 y 10 se indican por los extremos fuera del rectángulo. * $p \leq 0.001$.

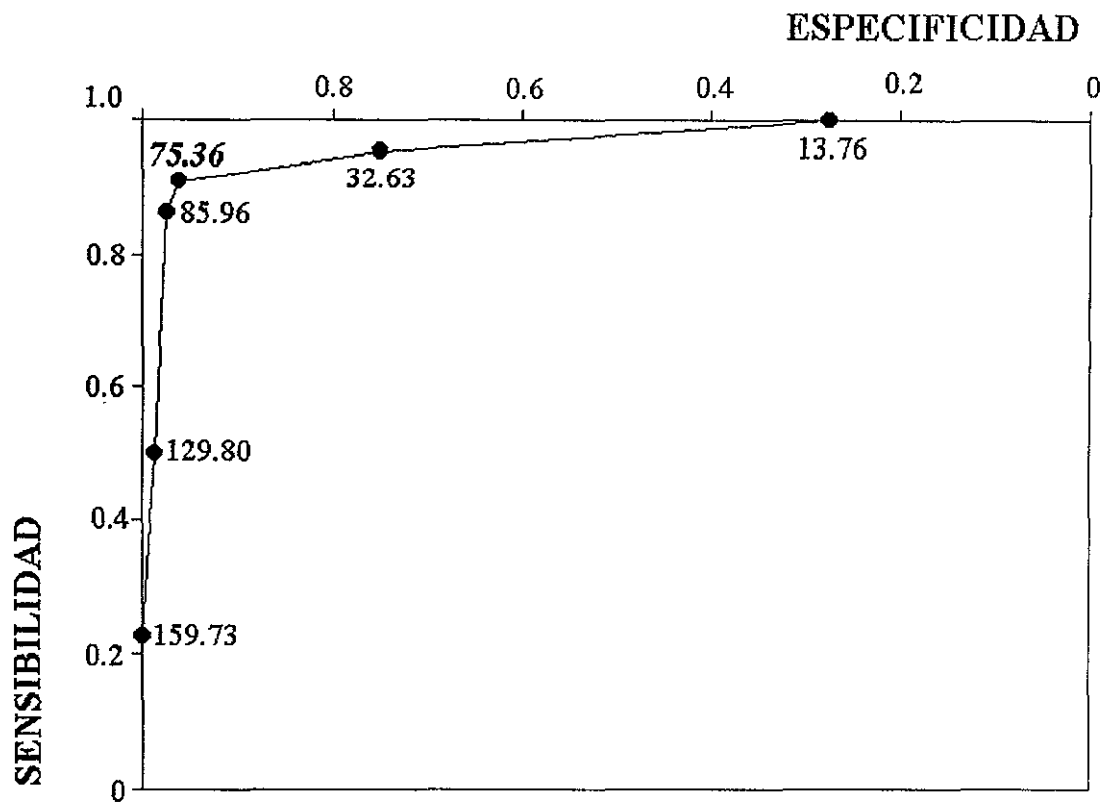


Figura 7. Curva ROC para ADA en plasma. Los números marcados sobre la curva constituyen diferentes valores de corte para esta enzima en UI/L.

8. DISCUSIÓN

El diagnóstico definitivo de cáncer pulmonar se establece mediante el hallazgo de las células malignas en el estudio histológico y/o citológico. Sin embargo, debido a que estos estudios presentan algunas limitaciones técnicas, la evidencia de las células malignas no siempre es posible⁷⁶. Por otro lado, los marcadores tumorales pueden ser utilizados como apoyo en la orientación al diagnóstico de cáncer; o bien, como una herramienta cuando se pretende discriminar derrames pleurales malignos de derrames benignos.

En el caso de tuberculosis, se ha reportado que la actividad de ADA aumenta en fluidos biológicos de pacientes con esta patología^{11,22,23,25,27,28,29}. Así, decidimos utilizar a la ADA como marcador asociado a tuberculosis, de este modo podemos agrupar los derrames de origen tuberculoso para después excluirlos, disminuyendo el número de falsos positivos; dentro de los derrames pleurales malignos.

Nuestro estudio corroboró la utilidad de ADA en el diagnóstico de esta patología, debido a que el grupo de tuberculosis presentó la mayor actividad de ADA al compararla con las actividades de los otros grupos, siendo esta diferencia significativa. Dicho comportamiento se presentó tanto en *plasma* como en *líquido pleural*.

Por otro lado, nuestros resultados indican que en el grupo de tuberculosis, la actividad de ADA en *líquido pleural* fue casi tres veces mayor que en *plasma*; sin embargo, la diferencia no fue significativa. En este sentido, no existen reportes que incluyan esta comparación. El comportamiento antes mencionado podría deberse a una dilución de la enzima cuando difunde del espacio pleural al torrente sanguíneo. Considerando este patrón en el grupo de tuberculosis, aunado a que encontramos que la actividad de ADA en los grupos misceláneos y cáncer fue similar tanto en *plasma* como en *líquido pleural*; sobresale el comportamiento de ADA en esta última muestra biológica, ya que el traslape entre el grupo de tuberculosis y los otros grupos fue mínimo, disminuyendo la posibilidad de que se presentaran falsos positivos y negativos, y mejorando los parámetros diagnósticos (PD) de ADA. Por lo anteriormente expuesto, nuestro grupo encontró que los PD de ADA en *líquido pleural* fueron mejores que en *plasma*.

Para ADA en *líquido pleural*, Bañales y cols.²⁷ reportan VC y PD similares a los nuestros, pero otros autores reportan VC menores (de 40 a 47 U/L) y obtienen PD similares o ligeramente menores (sensibilidad 79-100%, especificidad 87-97%)^{22,23,28,29}. En este sentido, Pérez-Rodríguez²², Niwa²⁸ y Ocaña²⁹, presentan PD menores a los encontrados por nosotros, esta discrepancia puede ser debida a que el VC que manejan no discrimina eficientemente. Sin embargo, Valdés y cols.²³ presentan PD más altos que los nuestros, probablemente debido al número de casos que incluyen (405); ya que estos mismos autores reportaron sensibilidad de 100% y especificidad de 87.5% en un estudio previo⁷⁷ que incluyó sólo 129 casos.

Por todo lo anterior, consideramos que ADA discriminó eficientemente derrames pleurales de origen tuberculoso de otros de origen diferente a la tuberculosis, a pesar de que su exactitud disminuyó a nivel plasmático.

En el diagnóstico de cáncer pulmonar, CEA ha logrado cierta aceptación clínica como un marcador tumoral útil en derrames pleurales malignos; pese a que se han encontrado niveles elevados de CEA en derrames benignos⁷⁸.

En nuestro estudio, el grupo de cáncer mostró que la concentración de CEA en *plasma* fue casi dos veces mayor que en los grupos de tuberculosis y misceláneos, aunque la diferencia no fue significativa. En cambio, la concentración de CEA en el grupo de cáncer fue significativamente mayor que en el grupo control. Para este MT, los cuatro grupos tuvieron un traslape considerable. Los percentiles 25 y 75 en *plasma* para el grupo de cáncer estuvieron en 1.1 ng/mL y 11.0 ng/mL, es decir, las concentraciones más elevadas de CEA en este grupo tuvieron una mayor dispersión y también denotaron una asociación con el cáncer pulmonar.

Para este mismo marcador en *plasma*, Stieber y cols.⁷⁰ obtuvieron sensibilidad de 29% y especificidad de 95% con 7.4 ng/mL como VC. Resultados similares son reportados por Klech y cols.⁸ (sensibilidad 36% y especificidad 93%). Sin embargo, ellos sacrifican la sensibilidad en favor de la especificidad; nosotros, por el contrario, tratamos de que ambos

PD tengan un peso similar, por lo que reportamos sensibilidad de 60% y especificidad de 68% al emplear 1.98 ng/mL como VC.

En *líquido pleural*, encontramos que en el grupo de cáncer la concentración de CEA fue significativamente mayor que en los grupos de tuberculosis y misceláneos, nuestros resultados coinciden con los de Klech⁸. En *líquido pleural*, el grupo de cáncer mostró percentiles 25 y 75 de 0.7 ng/mL y 201.0 ng/mL respectivamente, este comportamiento denota una asociación con el cáncer pulmonar, parecida a la que encontramos en *plasma*.

Para CEA en *líquido pleural*, Klech y cols.⁸ obtienen sensibilidad de 41% y especificidad de 98% con 5 ng/mL como VC, ambas menores a las encontradas por nuestro grupo. Por otra parte, Villena y cols.⁵⁴ reportan un VC (40 ng/mL) aproximadamente diez veces mayor al nuestro (4.41 ng/mL) y al VC de Klech⁸, reportando especificidad de 100% y sensibilidad de 43%, esta última menor a la encontrada por nosotros (57.14%). Cabe mencionar que Villena estudió 65 derrames malignos: 31 cánceres de pulmón, 17 neoplasias diferentes al cáncer de pulmón como: mama, ovario, colon y recto, páncreas, etc.; y también incluyó 17 neoplasias de origen desconocido. Así el grupo estudiado por Villena al ser tan heterogéneo puede obligarle a tener el VC antes mencionado. Aunado a que dan un menor peso a la sensibilidad en favor de la especificidad, lo que provoca que 43 neoplasias de 65 se incluyan entre los falsos negativos.

En nuestros grupos de tuberculosis y misceláneos, encontramos que la concentración de CEA en *plasma* fue ligeramente mayor que en *líquido pleural*, encontrándose para el grupo de tuberculosis una correlación positiva entre ambas muestras biológicas. Esto indica que en el caso de tuberculosis, el comportamiento de CEA es análogo en los dos fluidos biológicos.

Por otra parte, encontramos que en el grupo de cáncer, la concentración de CEA en *líquido pleural* fue cuatro veces mayor que en *plasma*; lo que provocó que los PD en *líquido pleural* fueran mejores que en *plasma*, tendencia que coincide con la reportada por Klech⁸.

También, en el grupo de cáncer observamos una correlación positiva en los niveles de este marcador entre ambas muestras biológicas. Una correlación similar es reportada por Klech⁸.

En relación al marcador Cyfra 21-1, se ha observado que este MT parece ser útil para discriminar derrames pleurales de origen maligno del benigno⁶⁶.

En el grupo de cáncer, observamos que la concentración *plasmática* de Cyfra 21-1 fue dos veces mayor que en el grupo de misceláneos, y significativamente mayor respecto a los grupos de tuberculosis y control. En este sentido, Pujol y cols.⁶⁹ reportan una diferencia significativa entre los grupos de cáncer y control, estos hallazgos denotan una relación entre Cyfra 21-1 y el diagnóstico de cáncer pulmonar.

Para Cyfra 21-1 en *plasma*, Pujol⁶⁹ y Stieber⁷⁰ reportan sensibilidad de 49 y 55%, especificidad de 95 y 96% con VC de 8.3 ng/mL y 3.6 ng/mL, respectivamente. Nosotros con VC de 1.93 ng/mL, obtuvimos una mejor sensibilidad (80.65%), a pesar de que la especificidad fue de 71.67%.

Bajo nuestras condiciones metodológicas, los PD correspondientes al marcador Cyfra 21-1 en *plasma* fueron mejores que los del marcador CEA.

En el *líquido pleural* del grupo de cáncer, la concentración de Cyfra 21-1 fue tres veces mayor que del grupo de tuberculosis y seis veces mayor que del grupo de misceláneos, pese a que estas diferencias no fueron significativas. Sin embargo, algunos autores encuentran que los niveles de Cyfra 21-1 en el *líquido pleural* de pacientes con enfermedad maligna son significativamente mayores que en aquellos con enfermedad benigna^{66,68}.

Para Cyfra 21-1 en *líquido pleural*, Toumbis⁶⁶ y Satoh⁶⁸ reportan sensibilidad de 82.3 y 69.6%, especificidad de 71.4 y 92%, con VC de 20.9 y 50 ng/mL, respectivamente; estos PD fueron parecidos a los nuestros. Sin embargo, Romero y cols.⁵⁵ reportan sensibilidad de 38%, especificidad de 82% para el VC de 50 ng/mL. Además concluyen que Cyfra 21-1 no tiene utilidad diagnóstica en *líquido pleural* y que no debería ser usada en suero de pacientes con daño renal; no obstante, las enfermedades benignas que constituyeron sus falsos positivos no fueron mencionadas en su reporte.

Por otra parte, nuestros resultados indican que para el grupo de cáncer existe una correlación positiva de la concentración de Cyfra 21-1 entre el *plasma* y el *líquido pleural*.

Este mismo comportamiento se observó con el marcador CEA. Lo cual sugiere que se podrían estudiar ambos marcadores en etapas más tempranas de la enfermedad, inclusive antes de que se desarrolle el derrame pleural, ya que el comportamiento de éstos en *líquido pleural* se refleja a nivel *plasmático*.

Para todos los grupos que estudiamos, la concentración de Cyfra 21-1 en *líquido pleural* fue significativamente mayor que en *plasma*. Lo que podría reflejar un fenómeno de compartimentalización. En este sentido, Toubis y cols.⁶⁶ también observaron que los niveles de Cyfra 21-1 en derrame pleural son mayores que en *plasma* en los grupos: maligno y benigno. La razón de esta acumulación de Cyfra 21-1 en el *líquido pleural* no se conoce, si bien muchas de las proteínas que se encuentran en el derrame provienen del *plasma*, éste no es el caso para Cyfra 21-1 ya que su concentración es menor en *plasma* que en *líquido pleural*. Algunos de los posibles mecanismos que pueden permitir la elevación de Cyfra 21-1 en el derrame podrían ser una producción y liberación local, y una lenta difusión hacia la circulación sanguínea. La liberación local de este marcador podría deberse a las células mesoteliales y a las células cancerosas, debido a que las células epiteliales no pierden la expresión de citoqueratinas durante la transformación maligna⁶². De este modo, la muerte de células malignas situadas en la cavidad pleural podría liberar al fluido pleural grandes cantidades de citoqueratinas, incluyendo la citoqueratina 19⁶⁶.

En relación a la combinación de dos marcadores en los diferentes grupos estudiados tanto en *plasma* como en *líquido pleural*. Nuestro grupo encontró sólo dos relaciones significativas, ambas únicamente en el grupo de tuberculosis: la primera, se trató de una correlación negativa entre la concentración de CEA y la actividad de ADA sólo a nivel pleural, esta relación que favorece la exclusión de individuos con tuberculosis, disminuye el número de falsos positivos en el diagnóstico diferencial de cáncer pulmonar. La segunda se trató de una correlación positiva entre la concentración plasmática de Cyfra 21-1 y CEA, hallazgo que implicaría la existencia de reciprocidad en la expresión de Cyfra 21-1 y CEA. Cabe mencionar que Satoh y cols.⁶⁸ tampoco encontraron relación entre los niveles de Cyfra 21-1 y CEA en el *líquido pleural* de pacientes con enfermedad benigna y maligna.

Es importante señalar que el análisis de los PD para pruebas múltiples es una herramienta estadística relativamente reciente que algunos reportes no incluyen, aun cuando determinan varios MT^{56,71,79}.

A partir del análisis de las doce distintas posibilidades de relación entre dos marcadores en *plasma*, encontramos que las asociaciones que tuvieron una mejor utilidad en el diagnóstico de cáncer pulmonar fueron: a) ADA por abajo del VC con Cyfra 21-1 por arriba del VC; b) ADA por abajo del VC con CEA por arriba del VC; c) ADA por abajo del VC con CEA y Cyfra 21-1 por arriba del VC y d) CEA y Cyfra 21-1 por arriba del VC.

Cualquiera de las asociaciones antes mencionadas mejoró los PD respecto a la determinación única de CEA. Sin embargo, sólo la primera asociación igualó los PD respecto a la determinación única de Cyfra 21-1 y las otras asociaciones no contribuyeron en la utilidad diagnóstica de Cyfra 21-1.

CEA y Cyfra 21-1 fueron determinados en *plasma* por Seemann y cols.⁵⁷, reportando sensibilidad de 56%, especificidad de 87% y exactitud de 68%, estos PD fueron ligeramente mayores a los de nuestro grupo. Probablemente esta discrepancia es debida a que Seemann incluye patologías benignas diferentes a las nuestras.

En contraste, Chantapet y cols.⁸⁰ concluyeron que la utilidad diagnóstica de un sólo marcador en *plasma* no aumenta por el uso combinado de CEA y Cyfra 21-1. Sin embargo, esta aparente contradicción con nuestros resultados, puede deberse a que Chantapet aplica sólo la prueba seriada para pruebas múltiples; ya que al aplicar la prueba paralela para pruebas múltiples, la utilidad diagnóstica de la asociación CEA y Cyfra 21-1 mejora considerablemente.

Otra asociación importante que encontramos en *plasma* fue la asociación inversa de los marcadores Cyfra 21-1 y ADA, que mejoró la especificidad, exactitud y VPP de Cyfra 21-1. Este hallazgo se hace más significativo a partir de que no existen reportes que relacionen a estos marcadores.

Al relacionar los marcadores CEA y ADA en *plasma* observamos que mejoraron todos los PD de CEA, excepto su sensibilidad. En este caso, tampoco existen reportes previos que hagan referencia a esta asociación.

A nivel plasmático encontramos que la asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA bajo el criterio: uno y/u otro positivo, obtuvo la mejor sensibilidad y el mejor VPN de todas las relaciones que estudiamos, incluyendo a los PD de los MT en forma individual.

También a nivel plasmático, la asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA bajo el criterio: uno y/u otro positivo, previa exclusión de los individuos ADA(+) tuvo la mejor exactitud respecto a todas las relaciones estudiadas. Cabe mencionar que el 39% del grupo de misceláneos que fue positivo para dicha asociación lo constituyeron: 2 hiperplasias, una pleuresía reactiva, un síndrome urémico, una neumonía, un fibrotórax y una coccidioidomycosis.

Si bien, no existen reportes que asocien CEA, Cyfra 21-1 y ADA a nivel plasmático con el diagnóstico de cáncer pulmonar, sí los hay que asocian CEA y Cyfra 21-1 con otro marcador tumoral llamado enolasa neurón-específica, obteniendo sensibilidad 61.5%, especificidad 87% y exactitud 71.0%⁵⁷. O bien, CEA y Cyfra 21-1 con el antígeno carbohidratado 15-3 (CA 15-3), reportando sensibilidad 74%, especificidad 92% y exactitud 85%⁵⁵. En este sentido, nuestra combinación de CEA, Cyfra 21-1 y ADA mejoró los PD de la asociación con NSE e igualó a los PD de la asociación con CA 15-3. En relación a esta última asociación, Romero y cols.⁵⁵ concluyen que la determinación combinada de CEA, Cyfra 21-1 y CA 15-3 en suero obvia su determinación en *líquido pleural*, lo que denota que su asociación no mejora los PD en esta última muestra biológica, hecho que en nuestro caso es ventajoso debido a que los PD de nuestra asociación son mejores en *líquido pleural*.

A partir del análisis de las doce distintas posibilidades de relación entre dos marcadores en *líquido pleural*, encontramos que las asociaciones que tuvieron una mejor utilidad en el diagnóstico de cáncer pulmonar fueron: a) ADA por abajo del VC con Cyfra 21-1 por arriba del VC; b) ADA por abajo del VC con CEA por arriba del VC; c) CEA y Cyfra 21-1 por arriba del VC y d) ADA por abajo del VC con CEA y Cyfra 21-1 por arriba del VC.

Podemos resumir que sólo la primera asociación mejoró los PD respecto a la determinación única de CEA o de Cyfra 21-1, mientras que la segunda igualó los PD respecto a la

determinación única de cada marcador y las otras dos últimas asociaciones no contribuyeron en la utilidad diagnóstica de CEA o de Cyfra 21-1. Este hallazgo denota que la utilización de ADA como marcador excluyente aumenta el valor diagnóstico de ambos MT en el diagnóstico de cáncer pulmonar en el derrame pleural.

En *líquido pleural*, la asociación de los marcadores Cyfra 21-1 y CEA bajo el criterio: uno y/u otro positivo, tuvo la mejor sensibilidad y VPN. Dicha asociación mejoró la sensibilidad, la exactitud y el VPN para ambos marcadores, pero sólo para Cyfra 21-1 mejoró la especificidad y el VPP.

En *líquido pleural*, la asociación de CEA y Cyfra21-1 bajo el criterio: uno y/u positivo, previa exclusión de los individuos ADA(+) tuvo la mejor exactitud. Cabe mencionar que el 23% del grupo de misceláneos que fue positivo para dicha asociación lo constituyeron: 2 neumonías, una hiperplasia y una pleuresía reactiva.

En el diagnóstico del cáncer pulmonar no existen reportes que estudien la asociación de CEA, Cyfra 21-1 y ADA en *líquido pleural*. No obstante los hay que asocian CEA y ADA con el marcador antígeno carbohidratado (CA 19-9) obteniendo sensibilidad 73.7%, especificidad 86.4% y exactitud 80.5%²⁸, estos PD son menores a los que nosotros obtuvimos. Este hallazgo denota que la determinación de CEA y ADA con Cyfra 21-1 en lugar de CA 19-9 es más útil en diferenciar derrames pleurales malignos de aquellos de origen tuberculoso.

Cabe mencionar que en *líquido pleural*, varias asociaciones tuvieron especificidad y VPP del 100%, pero los porcentajes correspondientes a la sensibilidad, exactitud y VPN fueron muy bajos.

Finalmente en términos generales, los PD obtenidos para las diferentes asociaciones hechas entre los marcadores Cyfra 21-1, CEA y ADA en *líquido pleural* fueron más altos que los obtenidos en *plasma*.

Nuestros resultados sugieren que la asociación de estos marcadores puede ser de utilidad en el diagnóstico de cáncer pulmonar. Sin embargo, es necesario llevar a cabo la determinación de estos marcadores en una muestra mayor para confirmar su utilidad en el diagnóstico de cáncer pulmonar.

9. CONCLUSIONES

- ◆ La utilidad clínica de CEA en el diagnóstico de cáncer pulmonar mejora al asociarse con cualquiera de los dos marcadores cuando su determinación se lleva a cabo en plasma. Sin embargo, en líquido pleural la utilidad diagnóstica de CEA no cambia cuando se asocia con Cyfra 21-1 o ADA.
- ◆ El valor diagnóstico de Cyfra 21-1 en cáncer pulmonar aumenta al asociarse con ADA cuando su determinación se lleva a cabo en plasma y en líquido pleural. Su asociación con CEA contribuye limitadamente en su valor diagnóstico.
- ◆ Al realizar la asociación entre los tres marcadores se incrementa el valor diagnóstico para cáncer pulmonar, al compararse con la sola determinación de un marcador tumoral, tanto en plasma como en líquido pleural.
- ◆ La determinación de estos marcadores se lleva a cabo de una forma rápida y sencilla. Además, pueden ser de gran utilidad en la orientación del diagnóstico de cáncer pulmonar, no sólo en derrame pleural sino en suero, lo que posibilita el estudio de los mismos en etapas menos avanzadas de la enfermedad.

10. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Weinberg RA. How Cancer Arises. *Sci Am* 1996; 275: 32-40.
- 2 Fishman AR, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM. Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. Third ed. USA: McGraw-Hill, 1998.
- 3 Ruoslahti E. How Cancer Spreads. *Sci Am* 1996; 275: 72-77.
- 4 Lazcano EC, Tovar V, Meneses F, Rascon RA, Hernández M. Trends of Lung Cancer Mortality in Mexico. *Arch Med Res* 1997; 28: 565-570.
- 5 Anuario Estadístico 1996, Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Control de Enfermedades. México: Dirección General de Estadística e Informática, 1997.
- 6 Mulshine JL, Treston AM, Brown PH, Birrer MJ, Shaw GL. Initiators and Promoters of Lung Cancer. *Chest* 1993; 103 (Suppl.): 4-11.
- 7 Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT. Lung Cancer: Principles and Practice. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996.
- 8 Klech H, Rona G, Hutter G, Bayer PM, Kummer F. Diagnostic value of the combined determination of carcinoembryonic antigen (CEA) in pleural effusion and serum with an enzyme immunoassay (EIA). Sensitivity, specificity and relation to tumor type. *J Wien Klin Wochenschr* 1986; 98: 564-573.
- 9 Wang NS. Anatomy and Physiology of the Pleural Space. *Clin Chest Med* 1985; 6: 3-16.
- 10 Wang NS. Anatomy of the pleura. *Clin Chest Med* 1998; 19: 229-240.
- 11 Sahn SA. The pleura (state of the art). *Am Rev Resp Dis* 1988; 138: 184-234.
- 12 Agostoni E, Zocchi L. Mechanical coupling and liquid exchanges in the pleural space. *Clin Chest Med* 1998; 19: 241-260.
- 13 Light RW, McGregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972; 77: 507-513.
- 14 Wilson SF, Thompson JM. Trastornos Respiratorios. 1a ed. España: Ediciones Doyma y Times Mirror, 1993.
- 15 Alarcón DG. Enfermedades respiratorias. 2ª. Edición. México: Salvat Ediciones, 1990.
- 16 Marel M, Stastny B, Melínová L, Svandová E, Light RW. Diagnosis of pleural effusions: Experience with clinical studies, 1986-1990. *Chest* 1995; 107: 1598-1603.
- 17 Naruke T, Tsuchiya R, Kondo H, Asamura H, Nakayama H. Implications of staging in lung cancer. *Chest* 1997; 112 (Suppl.): 242-248.
- 18 Rivera JA. Enfermedades de la pleura. 1a. ed. España. Publicaciones Barcelona, 1989.
- 19 Kurata N. Adenosine deaminase. *Nippon Rinsho* 1995; 53: 1178-1183.
- 20 Kelley WN. Analisis of normal and mutant forms of human adenosine deaminase – a review. *J Mol Cell Biochem* 1980; 29: 91-101.

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

- 21 Antony VB, Sahn SA, Antony AC, Repine JE. Bacillus Calmette-Guerin stimulated neutrophils release chemotaxins for monocytes in rabbit pleural space in vitro. *J Clin Invest* 1985; 76: 1514-1521.
- 22 Pérez-Rodríguez E, Castro DJ. The use of adenosine deaminase and adenosine deaminase isoenzymes in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Curr Opin Pulmonary Med* 2000; 6: 259-266.
- 23 Valdés L, San-José E, Alvarez D, Sarandeses A, Pose A, Chomón B. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993; 103: 458-465.
- 24 Giusti G. Adenosine Deaminase. In: Bergmeyer HI, ed. *Methods of enzymatic analyses*. New York: Academic Press, 1974: 1092-1099.
- 25 Fortes Baganha M, Pego A, Lima MA. Serum and pleural adenosine deaminase: correlation with lymphocyte populations. *Chest* 1990; 97:605-10.
- 26 Sitkovsky MV. The pathogenesis of immune dysfunction. *Immunology* 1970; 15: 36-42.
- 27 Bañales JL, Pineda PR, Fitzgerald JM, Rubio H, Selman M, Salazar-Lezama M. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions. A report of 218 patients and review of the literature. *Chest* 1991; 99: 355-357.
- 28 Niwa Y, Kishimoto H, Shimokata K. Carcinomatous and tuberculous pleural effusions. Comparison of tumor markers. *Chest* 1985; 87: 351-355.
- 29 Ocaña I, Martínez-Vázquez 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.
- 30 Adenosine Deaminase in Pleural Fluids: Test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 1983; 84:51-53.
- 31 <http://sos.ist.unige.it/guidelines/english/mmhomee.html>.
- 32 Wu JT. Review of circulating tumor markers: from enzyme, carcinoembryonic protein to oncogene and suppressor gene. *J Ann Clin Lab Sci* 1999; 29: 106-111.
- 33 Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chorionic granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497.
- 34 Magdelénat H. Tumor markers in oncology: past, present and future. *J Immunol Methods* 1992; 150: 133-143.
- 35 Bates SE. Clinical Applications of Serum Tumor Markers. *Ann Intern Med* 1991; 115: 623-638.
- 36 Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche H, Kemeny NE, et al. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1456-1466.
- 37 Hayes DF, Trock B, Harris AL. Assessing the clinical impact of prognostic factors : when is statistically significant clinically useful? *J Breast Cancer Res Treat* 1998; 52: 305-319.

- 38 Mizushima Y, Hirata H, Izumi S, Hoshino K, Konishi K, et al. Clinical significance of the number of positive tumor markers in assisting the diagnosis of lung cancer with multiple tumor marker assay. *Oncology* 1990; 47: 43-48.
- 39 Ebert W, Hoppe M, Muley T, Drings P. Monitoring of therapy in inoperable lung cancer patients by measurement of CYFRA 21-1, TPA, CEA, and NSE. *Anticancer Res* 1997; 17: 2875-2878.
- 40 Miedouge M, Rouzaud P, Salama G, Pujazon MC, Vincent C, Mauduyt MA, et al. Evaluation of seven tumour markers in pleural fluid for the diagnosis of malignant effusions. *Br J Cancer* 1999; 81: 1059-1065.
- 41 Giusti G. Adenosine deaminase. En: Bergmeyer HI, ed. *Methods of enzymatic analyses*. New York. Academic Press; 1974:1092-1099.
- 42 Bates SE, Longo DL. Use of serum tumor markers in cancer diagnosis and management. *Semin Oncol* 1987; 14: 102-138.
- 43 Zamcheck N. Carcinoembryonic antigen. Quantitative variations in circulating levels in benign and malignant digestive tract diseases. *Adv Intern Med* 1974; 19:413-33.
- 44 Choi JS, Min JS. Significance of postoperative serum level of carcinoembryonic antigen (CEA) and actual half life of CEA in colorectal cancer patients. *Yonsei Med J* 1997; 38: 1-7.
- 45 Gold P, Shuster J, Freedman SO. Carcinoembryonic antigen (CEA) in clinical medicine. Historical perspectives, pitfalls, and projections. *Cancer* 1978; 42: 1399-1405.
- 46 Rudert F, Saunders AM, Rebstock S, Thompson JA, Zimmermann W. Characterization of murine carcinoembryonic antigen gene family members. *J Mamm Genome* 1992; 3: 262-273.
- 47 Öbrink B. CEA adhesion molecules: multifunctional proteins with signal-regulatory properties. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 616-626.
- 48 Zwirner M. Longitudinal quality control of tumor marker assays: results of an international proficiency study with CEA. In Klapdor R. *Tumor associated antigens, oncogenes, receptors, cytokines in tumor diagnosis and therapy at the beginning of the nineties*. Cancer of the breast. State and Trends in diagnosis and therapy. USA: Wien, 1992: 283-290.
- 49 bioMérieux S.A. France. Vidas CEA
- 50 García-Pachon E, Padilla Navas I, Dosda D, Miralles-Llopis A. Elevated level of carcinoembryonic antigen in nonmalignant pleural effusions. *Chest* 1997; 111: 643-647.
- 51 Shinkai T, Saijo N, Tominaga K, Eguchi K, Shimizu E, Sasaki Y, et al. Serial plasma carcinoembryonic antigen measurement for monitoring patients with advanced lung cancer during chemotherapy. *Cancer* 1986; 57: 1318-1323.

- 52 Takeo S, Hara N, Ohta M. Preoperative high CEA level in lung cancer patients: significant of measurement of serum CEA level among preoperative and postoperative course in long time observed patient. *Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi* 1992; 40: 1089-1094.
- 53 Riantawan P, Sangsayan P, Bangpattanasiri K, Rojanarawee Wong P. Limited additive value of pleural fluid carcinoembryonic antigen level in malignant pleural effusion. *Respiration* 2000; 67: 24-29.
- 54 Villena V, López-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martín-Escribano P, Ortuño-de-Solo B, Estenoz-Alfaro J. Diagnostic value of CA 72-4, carcinoembryonic antigen, CA 15-3, and CA 19-9 assay in pleural fluid. *Cancer* 1996; 78: 736-740.
- 55 Romero S, Fernández C, Arriero JM, Espasa A, Candela A, Martín C, et al. CEA, CA 15-3 and CYFRA 21-1 in serum and pleural fluid of patients with pleural effusions. *Eur Respir J* 1996; 9: 17-23.
- 56 Nisman B, Lafair J, Heching N, Lyass O, Baras M, Peretz T, et al. Evaluation of tissue polypeptide specific antigen, Cyfra 21-1, and carcinoembryonic antigen in nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 1850-1859.
- 57 Seemann MD, Beinert T, Fürst H, Fink U. An evaluation of the tumour markers, carcinoembryonic antigen (CEA), cytokeratin marker (CYFRA 21-1) and neuron-specific enolase (NSE) in the differentiation of malignant from benign solitary pulmonary lesions. *Lung Cancer* 1999; 26: 149-155.
- 58 Muraki M, Tohda Y, Iwanaga T, Uejima H, Nagasaka Y, Nakajima S. Assessment of serum Cyfra 21-1 in lung cancer. *Cancer* 1996; 77: 1274-1277.
- 59 Ruay-Sheng L, Hon-Ki H, Jau-Yeong L, Luo-Ping G, Ning-Sheng L. Cyfra 21-1 enzyme-linked immunosorbent assay. Evaluation as a tumor marker in non-small cell lung cancer. *Chest* 1996; 109: 995-1000.
- 60 Mukhopadhyay T, Roth J. Functional inactivation of p53 by antisense RNA induces invasive ability of lung carcinoma cells and downregulates cytokeratin synthesis. *Anticancer Res* 1996; 16: 1683-1690.
- 61 Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, et al. *Anatomía de Gray: Bases Anatómicas de la Medicina y la Cirugía*. Trigésima octava ed. Inglaterra: Harcourt Brace, 1995.
- 62 Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R, et al. The catalog of human cytokeratins: pattern of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11-24.
- 63 Satoh H, Ishikawa H, Fujiwara M, Yamashita Y, Ohtsuka M, et al. Production of cytokeratin 19 fragment by human squamous lung cancer cell lines. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 597-604.
- 64 Kao CH, Hsieh JF, Ho YJ, Tsai SC, Lee JK. Cytokeratin fragment 19 (Cyfra 21-1) in healthy smokers. *Anticancer Res* 1999; 19: 4545-4546.

- 65 Nakahama H, Tanaka Y, Fujita Y, Fujii M, Sugita M. Cyfra 21-1 and ProGRP, tumor markers of lung cancer, are elevated in chronic renal failure patients. *Respirology* 1998; 3: 207-210.
- 66 Toubis M, Rasidakis A, Passalidou E, Kalomenidis J, Alchanatis M, et al. Evaluation of Cyfra 21-1 in malignant and benign pleural effusions. *Anticancer Res* 1996; 16: 2101-2104.
- 67 Lee YC, Knox BS, Garrett JE. Use of cytokeratin fragments 19.1 and 19.21 (Cyfra 21-1) in the differentiation of malignant and benign pleural effusions. *Aust N Z J Med* 1999; 29: 765-769.
- 68 Satoh H, Sumi M, Yagyu H, Ishikawa H, Suyama T, et al. Clinical evaluation of Cyfra 21-1 in malignant pleural fluids. *Oncology* 1995; 52: 211-214.
- 69 Pujol JL, Grenier J, Parrat E, Lehmann M, Lafontaine T, Quantin X, et al. Cytokeratins as serum markers in lung cancer: a comparison of Cyfra 21-1 and TPS. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 725-733.
- 70 Stieber P, Hasholzner U, Bodenmüller H, Nagel D, Sunder-Plassmann L, Dienemann H, et al. Cyfra 21-1. A new marker in lung cancer. *Cancer* 1993; 72: 707-713.
- 71 Takada M, Masuda N, Marsuura E, Kusunoki Y, Matui K, Nakagawa K, et al. Measurement of cytokeratin 19 fragments as a marker of lung cancer by Cyfra 21-1 enzyme immunoassay. *Br J Cancer* 1994; 71: 160-164.
- 72 Hamzaoui A, Thomas P, Castelnau O, Roux N, Roux F, Kleisbauer JP. Usefulness of longitudinal evaluation of Cyfra 21-1 variations in advanced lung cancer monitoring. *Lung Cancer* 1997; 16: 191-202.
- 73 Riedel U, Schonfeld N, Savaser A, Serk M, Loddenkemper R. Diagnostic value of the tumor markers TPA-M, Cyfra 21-1 and CEA in pleural effusion. Prospective comparison of thoracoscopic investigations in patients with pleural effusion. *Pneumologie* 1991; 53: 471-476.
- 74 Lai RS, Chen CC, Lee PC, Lu Y. Evaluation of cytokeratin 19 fragment (Cyfra 21-1) as a tumor marker in malignant pleural effusion. *Jpn J Clin Oncol* 1999; 29: 421-424.
- 75 Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1965; 121:439-45.
- 76 Dekker A, Bupp PA. Cytology of serous effusion: An investigation into the usefulness of cell blocks versus smears. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 855-860.
- 77 Valdés L, San José E, Alvarez D, Valle JM. Adenosine deaminase (ADA) isoenzyme analysis in pleural effusion: diagnostic role, relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. *Eur Respir J* 1996; 9: 747-751.
- 78 Carcinoembryonic antigen: Its role as a marker in the management of cancer. A National Institutes of Health Consensus Development Conference. *Ann Int Med* 1981; 94: 407-409.

- 79 Paone G, De Angelis G, Munno R, Pallotta G, Bigioni D, Saltini C, et al. Discriminant analysis on small cell lung cancer and non-small cell lung cancer by means of NSE and Cyfra 21-1. *Eur Respir J* 1995; 8: 1136-1140.
- 80 Chantapet P, Riantawan P, Lebnak P, Getngern P. Utility of serum cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21-1) and carcinoembryonic antigen (CEA) as tumour markers for non-small cell lung cancer. *J Med Assoc Thai* 2000; 83: 383-391.

APÉNDICE I

CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS

		ENFERMEDAD		
		PRESENTE	AUSENTE	
PRUEBA DIAGNÓSTICA	POSITIVA	a	b	a+b
	NEGATIVA	c	d	c+d
		a+c	b+d	a+b+c+d

a = número de *verdaderos positivos*

b = número de *falsos positivos*

c = número de *falsos negativos*

d = número de *verdaderos negativos*

SENSIBILIDAD = $a / a + c$

Probabilidad de que la prueba sea positiva en presencia de la enfermedad.

ESPECIFICIDAD = $d / b + d$

Probabilidad de que la prueba sea negativa en ausencia de la enfermedad.

EXACTITUD = $a + d / a + b + c + d$

Proporción de individuos bien clasificados por la prueba.

VPP = $a / a + b$

Probabilidad de que exista enfermedad cuando la prueba es positiva.

VPN = $d / c + d$

Probabilidad de que no exista enfermedad cuando la prueba es negativa.

APÉNDICE II

CURVA CARACTERÍSTICA DEL OPERADOR-RECEPTOR

Curva ROC

La determinación de la enfermedad se realiza atendiendo a una serie de valores numéricos obtenidos tras la aplicación de una prueba diagnóstica (Ej.: título de anticuerpos). En esos casos, se considera enfermedad la posesión de un valor por encima (o por debajo según el tipo de medición realizada) de un valor límite umbral que previamente se ha definido. El problema en estos casos surge cuando se desea conocer cual es el valor límite más adecuado para obtener un resultado fiable.

Si el valor umbral se lleva demasiado hacia los valores de lo patológico, se estará aumentando la especificidad de la prueba (reduce los falsos positivos, "b"), pero se reduce la sensibilidad (pues aumentan los falsos negativos, "c"). Por el contrario, si se lleva el límite hacia los estados de salud, aumenta la sensibilidad (reduce falsos negativos, "c"), pero a costa de reducir la especificidad (aumentan los falsos positivos, "b").

El cálculo del valor de corte límite crítico más adecuado en una prueba diagnóstica se realiza mediante las curvas de ROC, basadas en representar la curva definida para cada posible valor límite según la sensibilidad de la prueba ("S") en el eje de ordenadas y el porcentaje de falsos positivos para la prueba ("1-E") en el eje de abscisas. Posteriormente, se traza una recta para unir los puntos $S=1$ y $1-E=1$. El punto donde esta recta cruza la curva constituye el "valor límite crítico más adecuado" a utilizar.

APÉNDICE III

CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS DIAGNÓSTICOS PARA PRUEBAS MÚLTIPLES

En ocasiones los diagnósticos no pueden apoyarse exclusivamente en el uso de una única prueba diagnóstica debido a la posible existencia de un número importante de falsos positivos o de falsos negativos. En esos casos, debe recurrirse a las pruebas múltiples basadas en el uso de más de una prueba diagnóstica para emitir un resultado. Ese resultado, y especialmente su fiabilidad, dependerá de como se organice la realización de las mismas y de como se integren los resultados obtenidos para cada una de las pruebas usadas.

En investigaciones epidemiológicas se definen dos tipos diferentes de pruebas múltiples:

- **Paralelas**

Se trata de dos o más pruebas diagnósticas aplicadas en el mismo momento. En estos casos se consideran negativos aquellos individuos que resultaron negativos por todas las pruebas diagnósticas e individuos positivos aquellos que resultaron positivos por alguna de las pruebas. En este tipo de pruebas múltiples se logra reducir los falsos negativos (c) lo que significa que aumenta la **sensibilidad** y el **valor predictivo negativo**. Estas pruebas se aplican cuando se trata de asegurarse de que el individuo detectado como negativo o sano lo es realmente.

- **Seriadas**

Dos o más pruebas aplicadas secuencialmente. Inicialmente se realiza la primera prueba diagnóstica y a aquellos que resultaron positivos se les aplica la siguiente prueba diagnóstica. En este tipo de pruebas múltiples se considera persona positiva a aquella que resultó positiva por todas las técnicas y negativa a aquella que lo fue por alguna de las pruebas utilizadas. Mediante estas pruebas múltiples se reducen los falsos positivos (b), luego aumentan la **especificidad** y el **valor predictivo positivo**. Estas pruebas se aplican cuando interesa asegurarse de que la persona positiva lo es realmente.

Cálculo de sensibilidad y especificidad en pruebas múltiples

Paralelas:

$S = Sa + (Sb \times \text{falsos negativos de a});$ o bien:

$$1 - (1 - Sa)(1 - Sb)$$

$$E = Ea \times Eb$$

Seriadas:

$$S = Sa \times Sb$$

$E = Ea + (Eb \times \text{falsos positivos de a});$ o bien:

$$1 - (1 - Ea)(1 - Eb)$$

siendo:

a: primera prueba diagnóstica aplicada

b: segunda prueba diagnóstica aplicada

S: sensibilidad

E: especificidad

En definitiva, la selección de pruebas paralelas o seriadas dependerá de si se desea reducir al máximo posible los falsos positivos o los falsos negativos.