

# ESTUDIO DE CINCO MARCADORES TUMORALES (ANTÍGENO POLIPEPTÍDICO TISULAR, ANTÍGENO POLIPEPTÍDICO TISULAR ESPECÍFICO, ANTÍGENO CARCINOEMBRIÓNARIO, CITOQUERATINA 21-1 Y ENOLASA NEURONAL ESPECÍFICA) EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN

F.-L. Márquez (\*), L. Callol (\*\*), I. Rodríguez (\*), R. Blasco (\*\*\*), P. Labanda (\*\*\*) y E. J. Gómez de Terreros (\*\*).

(\* Sección de Neumología. Departamento de Medicina Interna. Hospital Regional Universitario Infanta Cristina. Badajoz. (\*\* Servicio Neumología Hospital Universitario del Aire. Madrid. (\*\*\*) Servicio Medicina Nuclear. Hospital Universitario del Aire. Madrid.

**FUNDAMENTO:** Estudiar la relación entre el hábito tabáquico y los niveles en el lavado broncoalveolar (LBA) de cinco marcadores tumorales (MT): antígeno polipeptídico tisular (TPA), antígeno polipeptídico tisular específico (TPS), antígeno carcinoembrionario (CEA), citoqueratina 21-1 (CYFRA 19-1) y enolasa neuronal específica (NSE); en pacientes con neoplasia pulmonar y en un grupo control no tumoral. Se analizó el valor de los MT en las fracciones bronquial (FB) y bronquioloalveolar (FBA) del LBA en pacientes con neoplasia visible endoscópicamente y en el grupo control.

**MÉTODOS:** Se estudiaron 15 individuos sin patología tumoral (grupo control) y 37 enfermos con cáncer de pulmón. En todos ellos se realizó el LBA según recomendaciones de la SEPAR, procesándose por separado los primeros 50 ml de líquido instilados (FB) de los 100 ml siguientes (FBA). En ambas fracciones se determinaron los MT mediante radioinmunoanálisis (RIA), y los valores de proteínas totales mediante la técnica de Lowry.

**RESULTADOS:** No encontramos diferencias significativas entre los valores de los MT en los sujetos del grupo control entre fumadores y no fumadores. En nuestros enfermos con cáncer pulmonar, encontramos valores superiores de CEA en la FBA en fumadores respecto a no fumadores ( $p < 0,05$ ). En los pacientes con tumores, encontramos valores aumentados de TPA, TPS, CEA y CYFRA 19-1 en la FB en relación con la FBA ( $p < 0,001$ ). En la FB, todos los NIT se encontraban elevados en los pacientes con cáncer, comparados con el grupo control. Los valores de estos MT de la FBA, también estaban significativamente más altos en el grupo tumoral.

**CONCLUSIONES:** Los valores de los MT analizados, se encuentran aumentados en el LBA en el cáncer de pulmón con afectación endobronquial. Los valores de estos MT se elevan más en la FB. Únicamente se han encontrado valores significativamente elevados de CEA en la FBA de los enfermos fumadores, con relación a los no fumadores.

Palabras clave:

- Cáncer de pulmón.
- Marcadores tumorales.
- Antígeno polipeptídico tisular (TPA).
- Antígeno polipeptídico tisular específico (TPS).
- Antígeno carcinoembrionario (CEA).
- Citoqueratina 21-1 (CYFRA 19-1).
- Enolasa neuronal específica (NSE).

- Lavado broncoalveolar.

## STUDY OF FIVE TUMOR MARKERS IN THE BRONCHOALVEOLAR LAVAGE OF PATIENTS WITH LUNG CARCINOMA.

**BACKGROUND.** The objective was to study the relation between smoking and bronchoalveolar lavage (BAL) level of five tumor markers (TMs): Tissular polipeptidic antigen (TPA), Tissular polipeptidic specific antigen (TPS), carcinoembryonic antigen (CEA), cytokeratin 21-1 (CYFRA 19-1) and neuron-specific enolase (NSE), in patients with lung cancer and in a non-tumor control group. Tumor marker value was analyzed in both fractions of BAL, (bronchial (BF) and bronchoalveolar (BAF)) in patients with endoscopic visible cancer and in the control group.

**METHODS:** Fifteen subjects without tumors (control group), and 37 patients diagnosed of lung cancer were studied. In all cases, BAL according to SEPAR recommendations was carried out. The first 50-ml of fluid instilled (BF) were processed separately, then the next 100 ml (BAF). In both fractions, TMs were determined by means of radioimmunoassay (RIA), and the total protein value by means of the Lowry technique.

**RESULTS.** In the control group, insignificant differences in TMs were found between smokers and nonsmoker. In patients with lung cancer, the values of CEA in BAF in smokers were significantly higher than in nonsmokers ( $p<0.05$ ). It was observed that all cancer patients had increased values of TPA, TPS, CEA and CYFRA 19-1, in BF related to BAF ( $p<0.001$ ). In BF, all TMs were higher in patients with cancer compared to the control group. The levels of these TMs in BAF were significantly higher in the cancer group too.

**CONCLUSION.** The values of the TMs analyzed increased in BAL of patients with lung cancer and bronchial extension. The values of these TMs were higher in BE, Only the value of CEA in BAF was significantly higher in smokers than in nonsmokers.

Key words:

- Lung cancer
- Tumor markers.
- Tissular polipeptidic antigen (TPA).
- Tissular polipeptidic specific antigen (TPS).
- Carcinoembryonic antigen (CEA).
- Cytokeratin 21-1 (CYFRA 19-1).
- Neuron-specific enolase (NSE).
- Bronchoalveolar lavage.

---

## INTRODUCCIÓN

---

La broncofibroscopia puede ser considerada como la técnica de mayor rentabilidad en el diagnóstico del cáncer pulmonar (CP). Cuando el tumor es visible endoscópicamente se consigue diagnosticar hasta un 98%; sin embargo, cuando el tumor es periférico, el poder diagnóstico de la prueba disminuye en función de la localización

tumoral. El LBA puede ser considerado como una técnica de ayuda en el diagnóstico del cáncer pulmonar en estas circunstancias, ya que nos puede permitir recoger células neoplásicas procedentes de las zonas más distales<sup>(1-23)</sup>. Los recientes trabajos que estudian los marcadores tumorales en el LBA de pacientes con cáncer de pulmón van poniendo cada vez más de manifiesto la importancia de estas sustancias en el diagnóstico de estos pacientes con tumores<sup>(4-9)</sup>. Por tanto, es de interés conocer los valores de estos MT en el LBA de tumores endoscópicamente visibles como paso previo al análisis de estas sustancias en casos en los que las neoplasias sean periféricas, para conocer su rentabilidad diagnóstica bajo estas circunstancias.

Actualmente se reconocen dos tipos distintos de muestras resultantes del LBA. Los primeros mililitros instilados y recogidos, que representan la muestra bronquial y es denominada fracción bronquial, y los restantes siguientes, que serían más representativos de la porción alveolar, y denominamos por ello fracción bronquioloalveolar<sup>(10-11)</sup>. El estudio por separado de estas dos fracciones puede dar resultados diferentes, pero complementarios, y por lo tanto interesantes de analizar.

El hábito tabáquico da lugar a cambios en los componentes del LBA; así, se han descrito diferencias en las poblaciones celulares y en los valores de ciertas sustancias en dicho líquido entre fumadores y no fumadores.<sup>(6)</sup>

Los objetivos del presente estudio son: 1) estudiar si existe relación entre el hábito tabáquico y los niveles en el lavado broncoalveolar de cinco marcadores tumorales: antígeno polipeptídico tisular (TPA), antígeno polipeptídico tisular específico (TPS), antígeno carcinoembrionario (CEA), citoqueratina 21-1 (CYFRA 19-1) y enolasa neuronal específica (NSE), tanto en pacientes con neoplasias pulmonares como en un grupo control; 2) analizar por separado las cantidades de dichos marcadores en las dos fracciones del LBA, bronquial y bronquioloalveolar; 3) cuantificar los valores de dichos marcadores tumorales, en el LBA de pacientes con cáncer de pulmón visibles endoscópicamente y compararlos con un grupo control no tumoral.

## MATERIAL Y MÉTODOS

---

### 1.- SUJETOS ESTUDIADOS

Durante un período de 31 meses se han realizado de forma prospectiva 64 LBA en otros tantos pacientes con diagnóstico nuevo de cáncer de pulmón y 24 en individuos considerados como grupo control. El criterio de inclusión fue, en el grupo tumoral el diagnóstico de cáncer de pulmón confirmado mediante métodos histológicos y no diagnosticado previamente y, en el grupo control, la ausencia de enfermedad actual respiratoria clínica, radiológica y funcionalmente demostrable.

Los criterios de exclusión utilizados para el estudio fueron cualquiera de las causas que constituyen contraindicación de broncofibroscopia, según las Normativas de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía torácica (SEPAR)<sup>(12)</sup>. De los 88 sujetos inicialmente incluidos en el estudio, solamente se completó el mismo en 52 por las siguientes razones: a) imposibilidad de recuperar una cantidad de líquido del LBA superior al 15% de lo instilado en 6 casos, todos pertenecientes al grupo tumoral; b) y/o presencia de un líquido de LBA hemorrágico según visión macroscópica, 17 casos (11 cánceres y 6 sujetos del grupo control); c) y/o presencia de líquido obtenido del LBA, con aspecto turbio en 13 casos (10 enfermos y 3 sanos).

El grupo control, lo constituyeron 15 sujetos, con edades comprendidas entre 26 y 71 años (media  $51,2 \pm 17,7$ ), de ellos, 10 varones (66,7%) y 5 mujeres (33,3%). Fumaban el 40%. En estas personas no se objetivó patología neumológica (ni en ninguna otra localización) tras haber completado el estudio médico, ni referían antecedentes de enfermedad pulmonar aguda en un período previo de seis meses. Ninguna de estas personas había tenido infección de vías respiratorias durante al menos un mes previo a la realización de la prueba. Todos los individuos incluidos en el grupo control fueron seguidos durante al menos 10 meses posteriormente a la realización del LBA, comprobándose la ausencia de patología respiratoria. El motivo por el que se les realizó broncoscopia fue tos pertinaz en 4 casos, hemoptisis con estudio radiológico normal otros 4, prueba de Mantoux positiva 3, elevación de hemidiafragma 2, sospecha de estenosis traqueal 1, y pinzamiento residual de un seno costofrénico lateral en la radiografía de tórax 1.

El 86,48% de los 37 enfermos con CP incluidos en el estudio eran varones ( $n=32$ ) y 5 mujeres (13,5%), con una media de edad de  $68,5 \pm 6,9$  años (rango 51-79). El 78,4% tenían hábito tabáquico. La estirpe histológica de estos tumores era: 56,7% (21 casos) epidermoides, 13,5% (5 sujetos) adenocarcinomas, 10,8% (4 individuos) anaplásicos de células pequeñas, 5,4% (2 pacientes) anaplásicos de células grandes, 8,1% (3 pacientes) tumores metastásicos y 5,4% (2 enfermos) carcinomas no clasificables. Ningún paciente tenía en el momento del diagnóstico datos que hicieran sospechar infección respiratoria.

Siguiendo el protocolo de estudio, los parámetros estudiados han sido iguales para cada uno de los grupos a los que nos hemos referido con anterioridad. En cada uno de ellos se analizaron: sexo, edad y hábito tabáquico, y los valores en el LBA de proteínas totales (PT) y de los siguientes marcadores: Antígeno polipeptídico tisular (TPA), antígeno polipeptídico tisular específico (TPS), antígeno carcinoembrionario (CEA), citoqueratina 21-1 (CYFRA 19-1) y enolasa neuronal específica (NSE).

## 2. MÉTODOS EMPLEADOS

El LBA se realizó en cada caso según las normativas recomendadas y estandarizadas. 12 Se premedicó a los sujetos con 0,5 mg de atropina intramuscular y sólo se usaron sedantes en casos muy excepcionales de gran nerviosismo. Se utilizó anestesia tópica de las vías aéreas superiores mediante nebulización con tetracaína y a través de punción intercricotiroidea, con 3 ml de lidocaína al 2%. El broncofibroscopio (BFC) empleado fue marca Olympus de última generación con fuente de luz fría. A continuación de la exploración detenida de la laringe, cuerdas vocales, tráquea y ambos árboles bronquiales de forma sistemática se llevó a cabo el LBA.

Éste, en los individuos del grupo control se realizaba en cualquier territorio pulmonar, de preferencia en un segmento o subsegmento del lóbulo medio o língula. En los individuos con tumores, el LBA se llevaba a cabo enclavando el broncofibroscopio en el bronquio afecto, ya que todos nuestros enfermos tenían lesión endoscópicamente visible, si bien de forma casual en ninguno de nuestros pacientes existió obstrucción total del bronquio por el tumor, lo cual hubiera dificultado el enclavamiento del BFC distal al tumor.

Para la realización del LBA se instilaba a través del canal del fibroscopio, con jeringa de plástico, una solución estéril de cloruro sódico al 0,9% y a temperatura ambiente, en alícuotas de 50 ml, hasta un total de 150 ml; posteriormente se procedía a la recuperación del mismo con una aspiración manual suave, recogiendo en tubos estériles de poliestileno de forma separada los primeros 50 ml instilados, que constituían la fracción

bronquial, de los 100 ml subsiguientes, que se denominaron fracción bronquioloalveolar; ambos se procesaban de manera inmediata para el laboratorio. Si se realizaban otras técnicas de recogida de muestras tales como cepillados, biopsias, etc., se hacían tras el LBA. En el grupo de sujetos estudiados no se produjo ninguna complicación relacionada con el LBA.

El estudio del componente celular del lavado se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones descritas en la literatura<sup>(12-13)</sup>. En el sobrenadante libre de células, obtenido tras la centrifugación del líquido del LBA, se determinaron: TPA, TPS, CEA, CYFRA 19-1, NSE y PT. Todos los componentes bioquímicos fueron analizados por radioinmunoanálisis (RIA) salvo las PT, que lo fueron por el método de Lowry<sup>(14)</sup>. Las concentraciones de las sustancias estudiadas se normalizaron en relación a mg de PT en el líquido del LBA, de tal forma que los resultados se expresaron tanto en unidades de la sustancia/unidad de volumen de líquido, como en unidades/mg PT.

La determinación de los diversos marcadores se realizó siguiéndose las normas vigentes respecto al almacenamiento, utilización y eliminación de materiales radiactivos emitidas por el Consejo de Seguridad Nuclear. Para medir la radiactividad se utilizó un contador gamma Gamma Chem 9612 (Lab System). Al analizar cada muestra por duplicado, el coeficiente de variación entre las dos lecturas fue menor del 10% para cada marcador.

La determinación del TPA y del TPS se llevó a cabo mediante un RIA tipo "sandwich"; la muestra es incubada con bolas de poliestireno que están unidas a anticuerpos anti-marcador; durante esta incubación, el marcador de la muestra se une al anticuerpo. Tras lavado, se vuelve a incubar con anticuerpos anti-marcador, señalados con I125, que se unen al marcador "capturado" previamente por las bolas con anti-marcador. Después de un nuevo lavado, se mide la radiactividad con una gammacámara. Se comprobó en todas las series con sueros control, valorados internacionalmente (Proligen TPA IRMA para el TPA y Beki Diagnostic AB para el TPS), para que las cifras halladas estuvieran siempre dentro del límite permitido. Los resultados se expresaron en U/ml y U/mg de PT, en ambos casos.

CEA, CYFRA 19-1 y NSE se determinaron mediante el empleo de un radioinmunoanálisis (RIA) con un doble anticuerpo (ligado y marcado) en un ensayo tipo "sandwich" en fase sólida. Se comprobó en todas las series con suero control, valorados internacionalmente (ELSA 2CEA. CIS bio internacional), para que las cifras halladas estuvieran siempre dentro de los valores permitidos. Los resultados del CEA y NSE se expresaron en ng/ml y ng/mg de PT, y los de la CYFRA 19-1 en pg/ml y pg/mg de PT.

### 3. ESTADÍSTICA

Los datos de la estadística básica se obtuvieron por el programa informático estadístico R-SIGMA de HORUS SA: media, desviación típica, error estándar, intervalo y valor máximo y mínimo.

Para comparar los datos utilizamos comparación de medias, pareadas o independientes, en caso de que las variables fueran normales, o la prueba de Wilcoxon (datos pareados) o de Man-Whitney (no pareados), si no lo eran.

## RESULTADOS

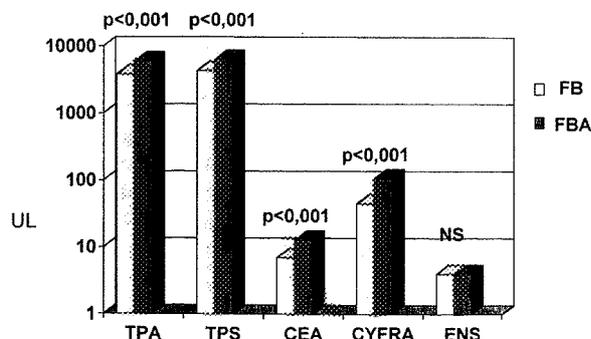


Fig. 1. Comparación de los valores de los marcadores tumorales expresados en volumen, entre las dos fracciones del lavado y en el grupo tumoral. FB: fracción bronquial, FBA: fracción bronquioloalveolar.

TABLA 1A

VALORES MEDIOS DE LOS MARCADORES TUMORALES EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR DEL GRUPO CONTROL, EXPRESADOS EN UNIDADES DE VOLUMEN

	G. Control (15)	G. Control nf (9)	G Control f (6)
TPA b	373,32 ± 392,9	268,89 ± 328,5	512,57 ± 457,9
TPS b	205,80 ± 234,8	169,13 ± 197,9	254,68 ± 289,1
CEA b	5,55 ± 6	5,09 ± 7,05	6,17 ± 4,9
CYFRA b	5,18 ± 4,7	4,21 ± 4,3	6,47 ± 5,3
NSE b	2,62 ± 0,8	2,58 ± 0,6	2,68 ± 1,1
PROT b	0,093 ± 0,08	0,068 ± 0,05	0,12 ± 0,11
TPA a	79,40 ± 92,6	63,62 ± 80	107,79 ± 116,3
TPS a	62,83 ± 27,1	59,84 ± 30,3	68,20 ± 22,3
CEA a	2,98 ± 2,5	2,34 ± 2,1	4,12 ± 3,07
CYFRA a	2,33 ± 0,8	2,61 ± 0,8	1,82 ± 0,8
NSE a	2,65 ± 0,6	2,74 ± 0,7	2,49 ± 0,4
PROT a	0,047 ± 0,041	0,033 ± 0,037	0,074 ± 0,036

G. Control nf: no fumadores del grupo control; G. Control f: fumadores del grupo control. Entre paréntesis se especifica el tamaño de la muestra. TPA: antígeno polipeptídico tisular (U/l); TPS: antígeno polipeptídico tisular específico (U/l); CEA: antígeno carcinoembrionario (ng/ml); CYFRA: citoqueratina 21-1 (ng/ml); ENS: enolasa neuronal específica (ng/ml); PROT: proteínas totales (mg/ml); b: de la fracción bronquial; a: de la fracción bronquioloalveolar.

TABLA 1B

VALORES MEDIOS DE LOS MARCADORES TUMORALES EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR DEL GRUPO TUMORAL, EXPRESADOS EN UNIDADES DE VOLUMEN

	G. Tumoral (37)	G. Tumoral nf (8)	G Tumoral f (29)
TPA b	6019,73 ± 16201,9	9183,79 ± 32182,9	5133,80 ± 14463,2
TPS b	6400 ± 20056,9	12620,14 ± 32182,9	4658,38 ± 17143,7
CEA b	12,99 ± 14,5	6,43 ± 4,2	14,80 ± 15,8
CYFRA 19-1b	106,99 ± 297,4	151,19 ± 374,3	94,1 ± 279,3
NSE b	3,95 ± 1,68	4,25 ± 2,6	3,75 ± 1,3
PROT b	0,23 ± 0,3	0,22 ± 0,2	0,23 ± 0,3
TPA a	3833,16 ± 15050,6	209,28 ± 1117,5	4868,56 ± 16989,1
TPS a	4281,86 ± 21674,4	148,30 ± 74,2	5462,88 ± 25445,1
CEA a	6,84 ± 8,8	4,90 ± 4,3	7,39 ± 9,8
CYFRA 19-1a	44,66 ± 183,5	3,05 ± 2,2	56,55 ± 207,4
NSE a	3,67 ± 1,6	3,62 ± 0,8	3,68 ± 1,8
PROT a	0,13 ± 0,16	0,17 ± 0,2	0,12 ± 0,2

G. Tumoral nf: no fumadores del grupo tumoral; G. Tumoral f: fumadores del grupo tumoral. Entre paréntesis se especifica el tamaño de la muestra. TPA: antígeno polipeptídico tisular (U/l); TPS: antígeno polipeptídico tisular específico (U/l); CEA: antígeno carcinoembrionario (ng/ml); CYFRA 19-1: citoqueratina 21-1 (ng/ml); ENS: enolasa neuronal específica (ng/ml); PROT: proteínas totales (mg/ml); b: de la fracción bronquial; a: de la fracción bronquioloalveolar.

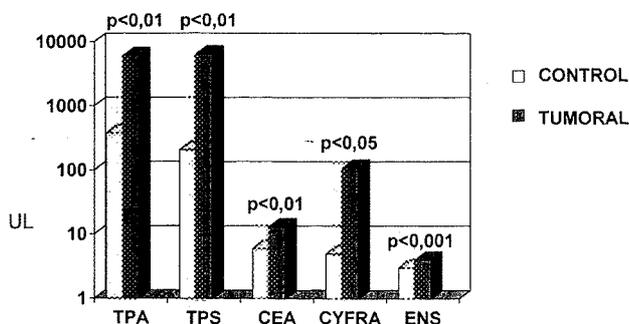


Fig. 2. Comparación entre los valores de los marcadores de la fracción bronquial del grupo tumoral y del grupo control (volumen).

En las Tablas 1A, 1B, 2A y 2B se expresan los valores medios de cada una de las variables estudiadas.

a) Tabaquismo.- No encontramos diferencias con significación estadística al comparar los valores de los MT ni de las proteínas totales del LBA de los sujetos del grupo control entre fumadores y no fumadores. En el grupo tumoral solamente encontramos diferencias significativas en los valores de CEA de la fracción bronquioloalveolar expresados en relación a las PT, que es mayor en fumadores ( $p < 0,05$ ).

b) Fracciones del LBA.- En los pacientes con tumores encontramos valores aumentados de TPA, TPS, CEA y CYFRA 19-1 en la fracción bronquial ( $p < 0,001$  en todos los casos) si expresamos los resultados en relación al volumen (Figura 1). Si se expresan los valores relacionados con las proteínas, encontramos mayores valores de

TPA y CYFRA 19-1 en la fracción bronquial ( $p<0,01$ ); curiosamente en este caso, los valores de ENS son más altos en fracción bronquioloalveolar ( $p<0,01$ ).

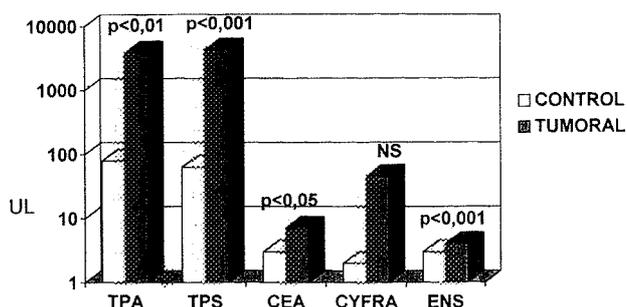


Fig. 3. Comparación entre los valores de los marcadores de la fracción bronquioloalveolar del grupo tumoral y del grupo control (volumen).

TABLA 2A

VALORES MEDIOS DE LOS MARCADORES TUMORALES EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR DEL GRUPO CONTROL, EXPRESADOS EN UNIDADES/PROTEÍNAS

	G. Control (15)	G. Control nf (9)	G Control f (6)
TPA b	5424,44 ± 6544,49	5997,50 ± 8014,79	4851,38 ± 5403,8
TPS b	3373,4 ± 4395,7	3815,60 ± 4877,1	2931,2 ± 4272,4
CEA b	79,08 ± 114,4	99,98 ± 163,8	58,18 ± 29,8
CYFRA 19-1b	81,82 ± 85,1,4	97,52 ± 107,4	66,11 ± 61,7
NSE b	42,19 ± 25,3	47,33 ± 26	30,50 ± 25,9
PROT b	-	-	-
TPA a	2672,6 ± 3462,1,6	3451,52 ± 4144,8	1270,54 ± 879,9
TPS a	2457,25 ± 2936,8	3218,54 ± 3470,1	1086,92 ± 544,5
CEA a	77,35 ± 76	92,89 ± 91,4	49,38 ± 23,4
CYFRA 19-1a	106,91 ± 116,3	145,95 ± 128,7	36,64 ± 35,74
NSE a	107,84 ± 106,6	143,42 ± 118,3	43,8 ± 31,2
PROT a	-	-	-

G. Control nf: no fumadores del grupo control; G. Tumoral f: fumadores del grupo tumoral. Entre paréntesis se especifica el tamaño de la muestra. TPA: antígeno polipeptídico tisular (U/g PT); TPS: antígeno polipeptídico tisular específico (U/g PT); CEA: antígeno carcinoembrionario (ng/mg PT); CYFRA: citoqueratina 21-1 (ng/mg PT); ENS: enolasa neuronal específica (ng/mg PT); PROT: proteínas totales (mg/ml); b: de la fracción bronquial; a: de la fracción bronquioloalveolar. PT: proteínas totales.

TABLA 2B

VALORES MEDIOS DE LOS MARCADORES TUMORALES EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR DEL GRUPO TUMORAL EXPRESADOS EN UNIDADES/PROTEÍNAS

	G. Tumoral (37)	G. Tumoral nf (8)	G Tumoral f (29)
TPA b	40260,02±102349	25808,5±46865,9	44306,45±113994
TPS b	24653,84±77987,1	30470,16±68767,9	23025,28±81614,9
CEA b	102,46±136,3	63,74±58,9	113,3±150,2
CYFRA 19-1b	340,47±912,4	417,2±783,53	318,1±960,9
NSE b	47,45±61,7	46,35±38,7	47,75±67,4
PROT b	-	-	-
TPA a	10940,88±24992,4	6448,2±10893,5	12180,24±27677,8
TPS a	7984,55±32043,5	1837,44±1537,8	9680,3±36135,7
CEA a	99,72±145,2	48,29±62,8	113,9±158,6
CYFRA 19-1a	147,22±300,5	59,56±61,5	170,12±335,3
NSE a	83,31±129,4	55±45,7	91,13±138,2
PROT a	-	-	-

G. Tumoral nf: no fumadores del grupo tumoral; G. Tumoral f: fumadores del grupo tumoral. Entre paréntesis se especifica el tamaño de la muestra. TPA: antígeno polipeptídico tisular (U/PT); TPS: antígeno polipeptídico tisular específico (U/PT); CEA: antígeno carcinoembrionario (ng/mg PT); CYFRA: citoqueratina 21-1 (ng/mg PT); ENS: enolasa neuronal específica (ng/mg PT); PROT: proteínas totales (mg/ml); b: de la fracción bronquial; a: de la fracción bronquioloalveolar.

Se encontraron valores de proteínas significativamente más altos en la fracción bronquial en este grupo de pacientes con cáncer ( $p<0,05$ ).

c) Comparación entre grupos.- En la fracción bronquial, todos los marcadores tumorales se encontraban elevados en los pacientes con tumor en relación al grupo control, (TPA, TPS y CEA  $p<0,01$ , CYFRA 19-1  $p<0,05$  y NSE  $p<0,001$ ), cuando estos marcadores se expresaban en unidades relacionadas con el volumen (Figura 2). Si se expresan en relación a las proteínas totales, aunque los valores se encontraban elevados en el grupo tumoral, se encontró significación estadística solamente para TPA ( $p<0,05$ ) y TPS ( $p<0,05$ ). Los niveles de estos marcadores tumorales de la fracción bronquioloalveolar, expresados en volumen también están significativamente más altos en el grupo tumoral, salvo los de CYFRA 19-1, que aunque mayores en tumorales que en el grupo control, no llega a la significación estadística (Figura 3); no se demostraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los marcadores en la fracción bronquioloalveolar cuando se expresan en relación a las proteínas totales.

Se encontraron valores significativamente más altos en las proteínas del LBA del grupo tumoral respecto al no tumoral, tanto en la fracción bronquial como en la bronquioloalveolar ( $p<0,05$  en ambas).

## DISCUSIÓN

Aunque hay autores que demuestran incrementos de CEA en el LBA de individuos fumadores<sup>(15)</sup>, nuestros resultados son superponibles a los de otros, que no hallan diferencias significativas en cuanto a los valores de ninguno de los marcadores tumorales analizados en el grupo control, entre fumadores y no

fumadores<sup>(4-5-7-16)</sup>. Los cambios bioquímicos descritos en el LBA de los fumadores se refieren fundamentalmente a las proteínas, sobre todo las inmunoglobulinas<sup>(17)</sup>. Sin embargo, y en consonancia con otros trabajos, nosotros no hemos encontrado diferencias significativas entre los valores de proteínas totales del LBA de fumadores y no fumadores en el grupo control<sup>(18)</sup>.

Al comparar los valores de los marcadores tumorales de los pacientes neoplásicos entre sujetos fumadores y no fumadores, únicamente encontramos diferencias con significación estadística en lo referente al CEA de la fracción bronquial, mayores en el grupo de fumadores. Este resultado concuerda con el trabajo de Stockley et al.<sup>(15)</sup> En otros estudios, sin embargo, la relación entre tabaquismo y niveles de CEA es muy débil<sup>(7)</sup>. Los valores de proteínas en el LBA del grupo tumoral, al igual que en el grupo control, no mostraron diferencias significativas entre fumadores y no fumadores.

La distribución del líquido del lavado a lo largo de las vías aéreas, ha sido estudiada gracias a técnicas de sustracción digital<sup>(19)</sup>. El líquido de la primera alícuota de 50-60 ml baña el broncoscopio y los bronquios, mientras que las subsiguientes lavan las vías aéreas más distales. Por lo tanto, una distribución no homogénea de células y solutos a lo largo de las vías respiratorias teóricamente afectaría la composición del líquido aspirado.

Los enfermos incluidos en este trabajo presentaban lesiones tumorales accesibles al broncoscopio, es decir, localizadas en una zona "representada" por la primera alícuota del lavado, por lo que resulta lógico el hallazgo de que existan cantidades superiores de los diferentes MT en la fracción bronquial del mismo. Los niveles del antígeno polipeptídico tisular (TPA), antígeno polipeptídico tisular específico (TPS), antígeno carcinoembrionario (CEA) y citoqueratina 19 (CYFRA 19-1) de la fracción bronquial de nuestros enfermos tumorales son significativamente superiores a los de la fracción bronquiolo alveolar. Comparando estos resultados con los de otros trabajos<sup>(5-20)</sup>, hemos encontrado datos muy similares. En un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo se evidenciaron valores significativamente más altos de TPA y TPS y CEA en la fracción bronquial; también se encontraron las cifras de NSE superiores en la fracción bronquioloalveolar, pero sin significación estadística<sup>(5)</sup>. El hecho de encontrar una mayor cantidad de proteínas en la fracción bronquial se explica porque los valores de proteínas totales en el LBA se encuentran relacionados inversamente con la cantidad de líquido instilado<sup>(21)</sup>.

Clásicamente, los primeros mililitros de líquido del LBA son desechados para su estudio; el hallazgo de que la elevación de los MT sea más llamativa en la primera fracción del LBA nos obliga a replantearnos si realmente se debe seguir manteniendo esta práctica, ya que, si bien su interés en el análisis del componente celular puede ser menor, no parece serlo así desde el punto de vista del estudio de solutos como los MT. En este sentido, la fracción primera del LBA parece ser la más adecuada para el estudio de los mismos.

Se han encontrado significativamente elevados los valores de todos los marcadores tumorales analizados en el LBA en el grupo tumoral respecto del control, cuando estos se expresaban en relación al volumen y en las dos fracciones del lavado, salvo para la CYFRA 19-1 de la fracción bronquioloalveolar que, aunque muy elevada respecto al grupo control, no alcanzó significación estadística, quizás debido a la gran dispersión de los valores de este marcador en el grupo de pacientes con CR. En un estudio muy reciente realizado por nuestro grupo de trabajo, se mostraron elevados TPA y CEA significativamente en los pacientes con carcinoma de pulmón<sup>(5)</sup>; en este trabajo, las unidades empleadas para expresar los valores de dichos marcadores fueron en relación con las proteínas totales. Cuando nosotros utilizamos estas unidades, únicamente encontramos significativamente elevados los valores de TPA y TPS en el grupo tumoral respecto del control. No encontramos la causa que justifique estas discrepancias en los resultados según las unidades de expresión que utilizemos, que se mantienen en casi todo el estudio, pero a nosotros no nos parecen divergentes, y pensamos que la utilización de ambas unidades, en relación a volumen y a proteínas, puede darnos una información complementaria en algunos casos.

En los tumores broncopulmonares se han descrito valores aumentados del TPA en el LBA, al igual que demostramos nosotros en el presente estudio<sup>(5-8)</sup>. No hemos encontrado referencias bibliográficas en relación al valor del TPS en el LBA de pacientes con patología tumoral pulmonar, salvo un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo, en el que los niveles hallados son superiores a los del grupo control<sup>(15)</sup>, pero, a diferencia de lo observado por nosotros, sin significación estadística. El aumento del CEA en el líquido del LBA es importante en casos de carcinoma broncogénico, y según algunos podría ser un marcador precoz considerándose de gran ayuda en el manejo diagnóstico de tumores muy periféricos y nódulos pulmonares<sup>(7-15)</sup>, aunque probablemente su mayor valor sea como seguimiento tras tratamiento<sup>(8)</sup>. Nosotros hemos encontrado niveles significativamente superiores en pacientes con CP frente al grupo control, y en nuestros enfermos tumorales estos valores son superiores en fumadores y en la fracción bronquial del lavado. No se han publicado hasta la fecha trabajos en los que se estudie el valor de CYFRA 19-1 en el LBA de sujetos afectados de cáncer de pulmón. En el presente trabajo se demuestra elevación de los niveles de CYFRA 19-1 en el LBA de enfermos afectados de CP, siendo esta elevación mayor en la primera fracción del lavado. En contraposición con nuestros resultados, no han encontrado elevaciones de la NSE en el LBA de pacientes con cáncer de pulmón en trabajos previos<sup>(5-6)</sup>.

Puesto que parece claro que existe una elevación de los MT estudiados en el LBA de CP con expresión endobronquial, sería de gran interés el análisis de los mismos en casos de neoplasias periféricas, en las que el poder diagnóstico de la broncoscopia es menor. Por otra parte, es posible que las determinaciones de estas sustancias en el LBA de pacientes con CP tengan un valor no despreciable en el seguimiento de la respuesta al tratamiento y en su relación con recidivas tumorales. Estos son dos aspectos muy interesantes que deberán ser investigados en un futuro.

## CONCLUSIONES

Los valores de los marcadores tumorales analizados en el LBA, TPA, TPS, CEA, CYFRA 19-1 y NSE, se encuentran aumentados en el cáncer de pulmón con afectación bronquial. Al analizar por separado las alícuotas obtenidas al lavar las vías aéreas proximales y distales de nuestros enfermos con neoplasias pulmonares, vemos que los valores de los marcadores tumorales se elevan más en la fracción bronquial, la zona más representativa de la vía aérea proximal y la más relacionada con los tumores estudiados (todos tenían afectación endobronquial). Únicamente se han encontrado significativamente elevados los valores de CEA de la fracción bronquioloalveolar en nuestros enfermos con hábito tabáquico, en relación a los no fumadores.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Rennard SI, Spurzen JR. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of lung cancer. *Chest* 1992; 102: 331-2.
2. Pirozynski M. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of peripheral, primary lung cancer. *Chest* 1992; 102: 372-4.
3. Levy H, Horak DA, Lewis MI. The value of bronchial washing and bronchoalveolar lavage in the diagnosis of lymphatic carcinomatosis. *Chest* 1988; 94: 1028-30.
4. Blasco Ferrándiz RE Contribución al estudio del lavado broncoalveolar. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid 1987.
5. Prados Sánchez C. Estudio de cuatro marcadores tumorales en las fracciones bronquiolar y alveolar del lavado broncoalveolar. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina Universidad Autónoma de Madrid 1993.

6. Alvarez-Sala Walter R. El lavado broncoalveolar. Estudio de sus componentes citológico y bioquímico como valores de referencia. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid 1991.
7. De Diego A, Compte L, Sanchís J, Enguidanos MJ, Marco Y Diagnostic value of carcinoembryonic antigen in bronchoalveolar lavage fluid of peripheral lung cancer. *Chest* 1990; 97: 767-8.
8. Lippman MI, Leon S. Usefulness of tumor markers in serum and lung lavage. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 354.
9. De Gracia J, Bravo C, Miravittles M, et al. Diagnostic value of bronchoalveolar lavage in peripheral lung cancer. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 649-52.
10. Rennard SI, Ghafouri MO, Thompson AB. Fractional processing of sequential bronchoalveolar lavage to separate bronchial and alveolar samples. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 208-17.
11. Lacoste JY, Bousquet J, Chanez P, Van Vyve T, SimonyLafontaine J, Lequeu N, et al. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma, chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 537-48.
12. Castella J, Llorente JL, Puzo MC, Sanchís J, Sueiro A, Xaubet A. Normativa sobre la práctica del lavado broncoalveolar (BAL). Ed Doyma SA. Barcelona 1989.
13. Moumoni H, Garaud P, Diot P, Lemarie E, Anthonioz R Quantification of cell loss during bronchoalveolar lavage fluid processing: effects of fixation and staining methods used in bronchoalveolar lavage fluid management. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 636-40.
14. Reynolds HYJ, Fulmer JD, Kazmicrowski JA, Roberts We, Franc MM, Crystal RG. Analysis of cellular and protein content of bronchoalveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonitis. *J Clin Invest* 1977; 59: 165-75.
15. Stockley RA, Ahaw J, Whitfield AGW, Clarke CA, Burnett D. Effect of cigarette smoking, pulmonary inflammation, and lung disease on concentrations of carcinoembryonic antigen in serum and secretions, *Thorax* 1986; 41: 17-24.
16. Alvarez-Sala JL. Usefulness of tumor markers in serum and lung lavage. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 354.
17. Thomas PS, Schreck RE, Lazarus SC. Tobacco smoke releases preformed mediators from canine mast cells and modulate prostaglandins production. *Am Physiol* 1992; 263: 1-67-72.
18. The BAL Cooperative Group Steering Committee. Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis and selected comparison group. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141 (S): 169-202.
19. Kelly CA, Kotrec 1, Ward C, Hendrick DJ, Walters ED. Anatomical distribution of bronchoalveolar lavage fluids as assessed by digital subtraction radiography. *Thorax* 1987; 42: 624-8.
20. LUISSETTI M, MELONI F, BALLABIO P, LEO G. Role of bronchial and bronchioalveolar lavage in chronic obstructive lung disease. *Monaldi Arch Chest Dis* 1993; 48: 54-7.
21. Agustí C, Molina R, Xaubet A, Fillella X, Mateu M, Solé NIT, et al. Valor diagnóstico de los marcadores tumorales CEA, NSE, CA 125 y SCC en el árbol bronquial de pacientes con carcinoma de pulmón. *Arch Bronconeumol* 1993 (Supl); 29: 114.