



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Departament de Medicina
Facultat de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

**NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD Y FIBROSIS PULMONAR:
ESTUDIO ETIOLÓGICO Y DEL PERFIL INFLAMATORIO**

Tesis presentada por Ana Villar Gómez para acceder al grado de Doctor
Programa de Doctorado en Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona

Directores de tesis:

Dr. Ferran Morell Brotad

Dr. Xavier Muñoz i Gall

Dra. María Jesús Cruz Carmona

Hospital Universitari Vall d'Hebrón
Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona, Junio 2017



Ferran Morell Brotad, Profesor emérito de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD Y FIBROSIS PULMONAR: ESTUDIO ETIOLÓGICO Y DEL PERFIL INFLAMATORIO”,

Presentada por Ana Villar Gómez e inscrita en el Departamento de Medicina de la UAB y dirigida por mi, para optar al grado de Doctor, representa una gran aportación al tema y reúne méritos suficientes para ser presentada y defendida ante el tribunal correspondiente.

Y, para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Barcelona, el siete de junio de 2017.

Dr. Ferran Morell Brotad



Xavier Muñoz i Gall, Profesor asociado de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD Y FIBROSIS PULMONAR: ESTUDIO ETIOLÓGICO Y DEL PERFIL INFLAMATORIO”,

Presentada por Ana Villar Gómez e inscrita en el Departamento de Medicina de la UAB y dirigida por mi, para optar al grado de Doctor, representa una gran aportación al tema y reúne méritos suficientes para ser presentada y defendida ante el tribunal correspondiente.

Y, para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Barcelona, el siete de junio de 2017.

Dr. Xavier Muñoz i Gall



María Jesús Cruz Carmona, Doctora en Biología por la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD Y FIBROSIS PULMONAR: ESTUDIO ETIOLÓGICO Y DEL PERFIL INFLAMATORIO”,

Presentada por Ana Villar Gómez e inscrita en el Departamento de Medicina de la UAB y dirigida por mi, para optar al grado de Doctor, representa una gran aportación al tema y reúne méritos suficientes para ser presentada y defendida ante el tribunal correspondiente.

Y, para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Barcelona, el siete de junio de 2017.

Dra. María Jesús Cruz Carmona

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Ferran Morell**, excelente médico, pero incluso mejor persona. Gracias por haberme inculcado la pasión por la patología intersticial, así como por la investigación encaminada siempre a los pacientes. Mi maestro en la medicina, pero también en la vida. Estar a tu lado estos años me ha aportado mucho mas que aquello que se puede aprender en los libros. La paciencia, el trato al paciente, la búsqueda de la verdad científica, la honestidad. Eres y serás siempre el mejor maestro que jamás pude imaginar tener. Gracias siempre por todo, jefe, y por lo que ha de venir.

Al **Dr. Xavier Muñoz**, por su docencia, por su dedicación y por haberme transmitido en estos años su entusiasmo hacia la investigación.

A la **Dra. María Jesús Cruz**, por su inestimable ayuda en la realización de esta tesis, por sus consejos, y por su confianza.

Al **Dr. Jaume Ferrer**, por su confianza y empatía, por su docencia y por sus sabios consejos.

Dr. Ganesh Raghu, thank you for your support, generosity and effort.

A la **Dra. María Antonia Ramón**, por su inestimable colaboración con el trabajo estadístico de esta tesis, y especialmente gracias tu amistad.

A la **Dra. Esther Pallisa** y la **Dra. Irene Sansano**, por vuestro entusiasmo y complicidad. Porque es genial trabajar con vosotras.

A **Rosa y a Montse**, gente maravillosa, que hacen que todo sea mas sencillo, y brindan su ayuda siempre con una sonrisa. Sois unas profesionales increíbles, y os estaré siempre agradecida por todo.

A todo el equipo de la **Unidad de Recerca de Neumología del HUVH**, porque sin vosotros, esta tesis no habría sido posible. Gracias a los que estáis, y a los que habéis cambiado de rumbo profesional.

A todo el **Servicio de Neumología**, por su trabajo diario, por su dedicación a los pacientes y a nuestra propia formación.

A mis amigas, **Laura, Helena, Teresa, Irene, Eva, Nuria**. Sois mi familia aquí, con vosotras he compartido mil ilusiones, mil momentos divertidos y otros tantos momentos tristes, pero siempre habéis estado ahí para darme el mayor de los abrazos; os quiero infinito amigas. A **Ada y a Anna**, mis amigas mas antiguas en Barcelona, gente maravillosa que la vida ha puesto en mi camino y a quienes quiero muchísimo. Gracias por cuidar siempre de mi, amigas.

A **Andreu**, por tu paciencia, tu apoyo, por lo bonito y por hacerme sonreír cada día.

A mis padres, **Juan y Rosa**, porque sin ellos no seria quien soy. Gracias por inculcarme luchar por mis sueños, por apoyarme en la difícil decisión de venir a vivir a Barcelona para formarme en aquello que deseaba desde que era niña, gracias por hacer que todo haya sido siempre tan fácil, gracias por quererme como lo hacéis. Papa, mira a donde me han llevado tus metáforas! Os quiero muchísimo, sois todo para mi.

A mi hermana, **Nu**, gracias por tu incondicional apoyo siempre. Porque he aprendido de ti, siempre has sido mi referente, alguien a quien admiro, y a quien adoro, alguien que me cuida desde la distancia, y que sigue ejerciendo de hermana mayor. Y gracias a aquellas personas que aunque ya no están, siempre las llevo conmigo.

Gracias a los pacientes, porque esta tesis es gracias y por vosotros. Gracias por permitirme dedicarme a aquello que me hace feliz.

INDICE

<u>LISTA DE ABREVIACIONES</u>	2
<u>INTRODUCCIÓN</u>	3
DEFINICIÓN	4
EPIDEMIOLOGÍA	5
ETIOLOGÍA	5
FISIOPATOLOGIA	17
FORMAS CLÍNICAS	20
DIAGNÓSTICO	22
CRITERIOS DIAGNÓSTICOS	22
SENSIBILIZACIÓN: DETERMINACIÓN DE IgG ESPECÍFICAS, PRUEBAS CUTÁNEAS DE HIPERSENSIBILIDAD INMEDIATA Y TEST DE ACTIVACIÓN LINFOCITARIA	27
FUNCIÓN PULMONAR	29
RADIOLOGÍA	30
LAVADO BRONCOALVEOLAR	33
BIOPSIA TRANSBRONQUIAL, CRIOBIOPSIA Y BIOPSIA PULMONAR QUIRÚRGICA	35
PRUEBA DE INHALACIÓN ESPECÍFICA	38
ESPUTO INDUCIDO. AIRE EXHALADO CONDENSADO. FENO.	43
TRATAMIENTO	44
<u>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</u>	46
<u>CAPÍTULO 1</u>	48
<u>CAPÍTULO 2</u>	59
<u>DISCUSIÓN</u>	69
<u>CONCLUSIONES</u>	76
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	78

LISTA DE ABREVIACIONES

AEC: Aire exhalado condensado
ATS: American Thoracic Society
AZA: Azatioprina
BPQ: Biopsia pulmonar quirúrgica
BQ: Bronquiectasias
BTB: Biopsia transbronquial
DLCO: Capacidad de difusión de monóxido de carbono
EI: Espujo inducido
ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay (ensayo inmunoenzimático)
EPG: Enfermedad del pulmón del granjero
EPI: Enfermedad pulmonar intersticial
EPOC: Enfermedad Pulmonar obstructiva crónica
FENO: Fracción espirada de óxido nítrico
FEV1: Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FPI: Fibrosis pulmonar idiopática
FVC: Capacidad vital forzada
IFN γ : Interferón gamma
Ig: Inmunoglobulina
IL: interleuquina
LBA: Lavado broncoalveolar
MMF: Micofenolato mofetilo
NH: Neumonitis por hipersensibilidad
NHA: Neumonitis por hipersensibilidad secundaria a exposición aviar
NHF: Neumonitis por hipersensibilidad secundaria a exposición fúngica
NINE: Neumonía intersticial no específica
NIU: Neumonía intersticial usual
NO: Neumonía organizada
O₂: Oxígeno
OCFA: Obstrucción crónica al flujo aéreo
PCA: Pulmón del cuidador de aves
PIM: Proteína inflamatoria de macrófagos
PQM: Proteína quimiotáctica de monocitos
TCAR: Tomografía computerizada de alta resolución
Th: T helper
TNF: Factor de necrosis tumoral

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

DEFINICIÓN

La neumonitis por hipersensibilidad (NH) es una enfermedad pulmonar intersticial (EPI) caracterizada por una desestructuración del parénquima pulmonar, como resultado de una reacción inflamatoria de causa inmunológica en respuesta a una extensa variedad de antígenos, provocando diferentes grados de desestructuración del parénquima pulmonar, tras una sensibilización previa ^{1 2}. Los antígenos descritos hasta la actualidad como causantes de las diferentes formas de NH son diversos, si bien la mayoría se clasifican en antígenos aviares, microorganismos (hongos, bacterias) y agentes químicos. La ubicuidad de estos antígenos en el medio ambiente y la mejoría en los métodos diagnósticos, junto con la implantación de un abordaje multidisciplinar de esta entidad, ha incrementado el diagnóstico de NH en el marco doméstico y ocupacional ³. A pesar de esto, en la actualidad, hasta en un 25-60% de los casos de NH según datos de diferentes series, no es posible identificar el antígeno causal ^{3 4 5}. Este hecho tiene una relevancia clínica especial, debido a que la identificación del antígeno causal se ha demostrado como factor independiente relacionado con la supervivencia en las NH ⁴. Un interrogatorio exhaustivo acerca de posibles fuentes antigénicas ² y el conocimiento del clínico acerca de posibles antígenos capaces de producir una reacción inflamatoria a nivel pulmonar en un individuo predispuesto, son piezas clave para aumentar las probabilidades del diagnóstico de NH ^{6 7 8 9}. Además, la interrupción de la exposición antigénica es crucial en el manejo de esta enfermedad, siendo el tratamiento más efectivo, especialmente en los estadios iniciales, dado que la evolución natural de las formas crónicas será hacia la instauración de una fibrosis pulmonar progresiva y fallo respiratorio ¹⁰.

El diagnóstico de NH continua siendo en la actualidad complejo, debido a la falta de criterios diagnósticos validados. Así, el hallazgo de un patrón radiológico característico en la tomografía computerizada de alta resolución (TCAR), la presencia de linfocitosis en el lavado broncoalveolar (LBA) ^{11 12 13}, y el hallazgo de fibrosis intersticial linfocitaria con granulomas no necrotizantes en el estudio histológico orientan al diagnóstico en un contexto clínico favorable

¹⁴. Pero, estos hallazgos pueden no ser específicos, y en ocasiones simular a otras patologías ¹⁵, siendo el diagnóstico diferencial con la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) el escenario más complejo. En este sentido, la introducción de test inmunológicos, tales como la determinación de anticuerpos IgG específicos en suero ^{2 16} frente a proteínas aviares y/o fúngicas, y la práctica de una prueba de inhalación específica (PIE) frente al antígeno que se considera potencialmente causal, pueden ser de gran valor para establecer el diagnóstico y la causa de la enfermedad ^{12 17 18 19 20 21 22} .

EPIDEMIOLOGÍA

En la actualidad, el verdadero impacto de la NH continua siendo desconocido. Este hecho, puede ser debido a diversos factores, como la situación ambiental, el clima, la localización geográfica, o la dedicación profesional del individuo. Por este motivo existe una gran diversidad de datos en los estudios poblacionales realizados. Así, mientras que en relación a la población general, estudios epidemiológicos estiman una incidencia de NH del 0,3 a 0,9 por 100,000 habitantes ^{23 24 25}, en relación al conjunto de la EPI, algunos estudios estiman un rango de incidencia que oscila entre el 18-30% ^{17 26}, mientras que otros sugieren que las NH constituyen entre el 2% y el 13% de las enfermedades pulmonares intersticiales ^{3 27}.

ETIOLOGÍA

En el año 1932 Campbell ²⁸ describió por primera vez el caso de un granjero afecto de una reacción inflamatoria pulmonar tras exposición al heno enmohecido, patología que denominó **enfermedad del pulmón del granjero** (EPG) u originariamente ***Farmer's lung disease***. Si bien entonces se reseñó la asociación temporal entre exposición y enfermedad pulmonar, no fue hasta el año 1962 ²⁹ en el que Pepys et al. introdujeron el término hipersensibilidad, identificando la presencia de IgG específicas frente a los hongos contenidos en el heno enmohecido en el suero de granjeros enfermos. Desde su primera descripción, la EPG se convirtió en el prototipo de la enfermedad.

Se trata de una hiperrespuesta inmune frente a las esporas de actinomicetos termófilos presentes en el heno enmohecido, identificados como *Sacharopolyspora rektivirgula*, (anterior *Micropolyspora faeni*, descrito como principal antígeno de la EPG), *Thermoactinomyces vulgaris*, *Thermoactinomyces viridis* y *Thermoactinomyces sacchari* ³⁰. Otros agentes tales como hongos y fragmentos de hongos, entre los que se incluyen especies del género *Alternaria*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans* y *Absidia (Lichtheimia) corymbifera*, así como bacterias tales como *Erwinia herbicola (Pantoea agglomerans)* y *Streptomyces albus* han sido descritos como causantes de la enfermedad ^{31 32 33}. Estos organismos se reproducen en zonas de elevada humedad y temperaturas de 40-60 ° C, pudiendo ser aislados principalmente en el heno enmohecido y hierbas de forraje ³⁴. La constante evolución de las técnicas agrícolas condiciona modificaciones en los ecosistemas específicos de las diferentes áreas geográficas, dando lugar a la aparición de nuevos agentes etiológicos de la enfermedad, por lo que se encuentra en constante revisión ³³.

Otra forma frecuente de enfermedad, que en determinadas series puede ser incluso la primera causa de NH, es la NH secundaria a la inhalación de proteínas aviares, denominada **Pulmón del cuidador de aves** (PCA) u originariamente **Bird fancier's lung**. Reed et al ³⁵ describieron por primera vez esta entidad en el año 1965, dando a conocer el caso de tres pacientes que desarrollaron una neumonitis intersticial aguda tras exposición a aves que cuidaban como *hobbie*. En este primer trabajo, se demostraba también la presencia de una reacción de hipersensibilidad a las proteínas aviares a través de la determinación de IgG específicas en suero, así como la reproducibilidad de los síntomas tras la exposición directa en el hospital a las plumas de las aves o bien tras inhalación de las proteínas contenidas en el suero y/o los excrementos de las mismas. Desde su primera descripción, el conocimiento científico de esta entidad ha ido en aumento, ^{36 37 38 39 40}, siendo en el año 2008 cuando se publicó una de las series más extensas descritas hasta la actualidad de PCA ¹².

La enfermedad del PCA puede resultar de la exposición intensa y continuada a un gran número de aves, como sucede en los criadores de palomas y de otras especies (tórtolas, faisanes, loros, periquitos, canarios, cotorras y otros pájaros exóticos) ^{12 41} expuestos a una

concentración antigénica elevada, pero también una exposición mínima pero persistente en el tiempo frente a antígenos aviáres puede condicionar el desarrollo de la enfermedad ⁴². Así, la exposición prolongada a las proteínas aviáres originadas en el suero de las aves ^{16 43} y presentes en los productos epiteliales de las mismas ⁴⁴, en el *Bloom* (polvo que recubre las plumas) ^{16 43} o en los propios excrementos de los pájaros son las principales fuentes antigénicas ⁴³ de esta forma de NH.

La exposición por contacto directo con aves, es por tanto, la forma más frecuente y reconocida de esta entidad, si bien, puede también suceder en circunstancias en las que no existe un contacto directo con el animal. En efecto, la NH puede ser el resultado del contacto con antígenos aviáres y fúngicos presentes en plumas ocultas en el ambiente doméstico (por ejemplo edredones de plumas, almohadas...) ⁴⁵. Esta forma de enfermedad, denominada ***Feather duvet lung*** fue descrita por primera vez por Fitting et al. ⁴⁶ en 1984, siendo reportados desde entonces diversos casos esporádicos en la literatura ^{12 47 48}. La incidencia y prevalencia de esta entidad son a día de hoy, todavía desconocidas.

Además de los mencionados, otros antígenos han sido propuestos como potenciales agentes causales de la enfermedad, condicionando entidades clínicas específicas. En líneas generales, se pueden clasificar en tres categorías: Microorganismos (incluyendo bacterias, hongos y amebas), proteínas animales, y agentes inorgánicos ^{3 49}. En algunos casos, pueden ser incluso varios agentes los causantes de una misma enfermedad, tal como ocurre por ejemplo en el caso de la aspergiosis o suberosis, en la que *Aspergillus*, *Penicillium*, proteínas del corcho, y recientemente el *Mucor* han sido descritos como agentes causales de la enfermedad ^{50 51 52}.

En la Tabla 1 se enumeran los antígenos causantes de NH descritos hasta la actualidad.

Tabla 1. Materiales y antígenos causantes de las neumonitis por hipersensibilidad . Modificado de Vasakova et al. ²

Sustancia	Fuente	Enfermedad	Ocupaciones, actividades en el hogar, <i>hobbies</i>
Sustancias orgánicas			
1. MICRORGANISMOS			
Hongos/mohos			
<i>Absidia corymbifera</i>	Heno, paja, material vegetal; Humidificadores contaminados	Pulmón del granjero Pulmón del humidificador	Granjeros; lugar con aire acondicionado contaminado
<i>Acremonium strictum</i>	Serrín, madera mohosa	Pulmon del carpintero	Carpinteros
<i>Alternaria alternata</i>	Humidificadores contaminados; Pulpa de madera, polvo	Pulmon del humidificador; Pulmon del carpintero	Trabajadores de la madera; Carpinteros; colocadores de parqué; espacios con aire acondicionado
<i>Aspergillus clavatus</i>	Cebada contaminada	Pulmon del trabajador de la malta	Trabajadores de la malta
<i>Aspergillus flavus</i>	Heno, paja, plantas mohosas	Pulmon del granjero	Granjeros
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Heno, compost, setas, malta, tabaco, flores en macetas; invernadero. Moho en las paredes; muebles tapizados; excrementos de aves; agua contaminada. Paredes contaminadas / yeso mohoso (<i>Stipa tenacissima</i>) corteza del alcornoque, vapor de agua de planchar; Cítricos mohosos; Hojas de tabaco; Astillas de madera; Abono de la corteza; residuo orgánico; salami; Pozos mohosos	NH de interior; pulmon del cuidador de aves, pulmon del granjero, pulmon del compost, pulmón del productor de setas, pulmon del trabajador de malta, pulmon del cultivador de tabaco, pulmon del trabajador de estuco; suberosis, pulmon del panadero, chacinero's lung (polvo seco del embutido), espartosis, pulmon del	Agricultores; Productores de setas; Jardineros; Tapiceros; Criadores de aves de corral; Médicos veterinarios; Comerciantes de animales; Trabajadores de la malta; Fruticultores; Productores de tabaco; Trabajadores de estuco; panadería; Planchar con vapor; Trabajos de enlucido; trabajos de construcción; Albañiles (España, África del Norte); Clasificación de residuos; Alojarse en habitaciones con aire

		planchador/a; pulmon del clasificador de residuos; pulmon del fruticultor.	acondicionado
<i>Aspergillus niger</i>	Hongos ubicuos, casas contaminadas, humidificadores	NH de interior; pulmón del humidificador.	Alojarse en habitaciones con aire acondicionado; Casas contaminadas
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Crecimiento de moho en habitaciones	NH de interior	Alojarse en habitaciones con aire acondicionado, casas contaminadas
<i>Aspergillus oryzae (enzyme)</i>	Aspergillus en productos de horneado	Alveolitis fúngica	Panadería; Productores de harina
<i>Aspergillus umbrosus</i>	Heno, paja, plantas mohosas	Pulmón del granjero	Granjeros
<i>Aspergillus versicolor</i>	Casas contaminadas	NH de interior; Pulmón del granjero	Alojarse en habitaciones con aire acondicionado; Casas contaminadas; granjeros
<i>Aureobasidium spp.</i>	Agua de sauna contaminada, polvo de secuoya, ventilación doméstica y sistemas de frio; Agua de plancha de vapor; Flores en maceta, invernadero	Pulmón humidificador; NH de fuente interior; Pulmón del usuario sauna; Pulmón de planchador/a	Usuarios de sauna; Empleados de baño o piscina; Jardineros; trabajadores de planchado.
<i>Botrytis cinerea</i>	Moho en las uvas	Pulmón del viticultor	Trabajadores de viñedos; Elaboración del vino
<i>Cephalosporium spp</i>	Sótano contaminado, humidificador contaminado; Flores en macetas; invernadero	Pulmón humidificador; <i>Summer type pneumonitis</i>	Alojarse en habitaciones con aire acondicionado, casas contaminadas; Jardineros
<i>Cladosporium</i>	Moho en el techo	Alveolitis del moho; NH doméstica; hot-tube lung	Jardineros, empleados de baños o piscinas, usuarios de sauna
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Casas contaminadas	<i>Summer type pneumonitis</i>	Alojarse en casas contaminadas (<i>Herbarum, cladosporioides</i>)
<i>Cryptococcus albidus and</i>	Casas contaminadas	<i>Summer type pneumonitis</i>	Alojarse en casas contaminadas
<i>Cryptostroma corticale</i>	Troncos de arce contaminados; Flores	Pulmón de carpintero; Cultivador de orquídeas	Trabajadores de la madera; Floristas Cultivadores de orquídeas
<i>Epicoccum nigrum</i>	Moho en el hogar y lugar de trabajo	NH de interior	Alojarse en espacios mohosos
<i>Eurotium amstelodami</i>	Humidificadores	Pulmón	Alojarse en

	contaminados, heno	humidificador, pulmón del agricultor	habitaciones con aire acondicionado; agricultores
<i>Exophiala jeanselmei</i>	Mohos en baños de vapor	Pulmon del trabajador de sauna	Empelados de baño o piscina
<i>Fusarium spp.</i>	Mohos en hogar y trabajo; Moho en plantas (cebada, endivias), en suelo, instrumentos de viento contaminados	NH de interior	Estar en habitaciones contaminadas, jardineos, granjeros, músicos
<i>Fusarium culmorum</i>	Nebulizadores ultrasónicos	NH de interior	Nebulizadores
<i>Fusarium solani</i>	Cebollas y patatas	Neumoniis del clasificador de cebolla y patatas	Clasificación de cebolla y patata
<i>Graphium spp</i>	Polvo de secuoya, serrín	Secuoyosis; Pulmón de carpintero	Carpinteros
<i>Leucogyrophana pinastri</i>	Madera descompuesta	Pulmón de carpintero	Carpinteros
<i>Monocillium</i>	Turba	Pulverizador de turba	Trabajadores de la turba
<i>Mucor spp.</i>	Madera mohosa, humidificadores contaminados, serrín	Pulmón del cortador de madera; Pulmón de carpintero; pulmón del trabajador de corcho; Pulmón del humidificador	Trabajadores de la madera; Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Mucor stolonifer</i>	Vainas de paprika mohosas (pimentón)	Pulmon de cortador de paprika	Cortadoras de paprika (pimentón)
<i>Paecilomyces variottii</i>	Madera descompuesta, moho en madera quemada; Mohos en espacios de trabajo y hogar	NH de interior; Pulmón de carpintero; Alveolitis de viruta de madera	Alojarse en espacios mohosos húmedos; Carpinteros
<i>Penicillium brevicompactum</i>	Heno, paja, plantas mohosas; Mohos en las uñas y la piel, astillas de madera mohosa	Pulmón del agricultor; Pulmón del podólogo	Agricultores; Productores de cítricos; podólogo; Carpinteros
<i>Penicillium camemberti</i>	Queso mohoso	Pulmon del limpiador de queso	Producción de queso
<i>Penicillium casei</i>	Queso mohoso; Revestimiento blanco sobre salami; Humidificadores contaminados	Pulmon del limpiador de queso; Pulmón humidificador; Productor de salami	Producción de queso; Estar en habitaciones con aire acondicionado; encurtidores
<i>Penicillium chrysogenicum</i>	Mohos en los hogares y lugar de trabajo	NH de interior	Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Penicillium citreonigrum</i>	Turba	Pulverizador de turba	Trabajadores de la turba
<i>Penicillium cyclopium</i>	Mohos en los hogares y lugar de trabajo	NH de interior	Alojarse en espacios con aire

			acondicionado
<i>Penicillium expansum</i>	Mohos en los hogares y lugar de trabajo	NH de interior	Alojarse en espacios con aire acondicionado
<i>Penicillium frequentans</i>	Corcho enmohecido; Revestimiento blanco sobre salami; Moldes en los apartamentos; agua contaminada	Pulmón del productor de salami; Pulmon del trabajador de corcho; <i>Summer type HP</i>	Trabajadores del corcho; Producción de salami; Espacios con aire acondicionado
<i>Penicillium glabrum</i>	Corcho enmohecido	Pulmon del trabajador del corcho (suberosis)	Trabajadores del corcho
<i>Penicillium glaucum</i>	Queso mohoso	Pulmon del limpiador de queso	Producción de queso
<i>Pencillium roqueforti</i>	Queso mohoso	Pulmon del limpiador de queso	Producción de queso
<i>Penicillium verrucosum</i>	Queso mohoso	Pulmon del limpiador de queso	Producción de queso
<i>Penicillium spp.</i>	Sótano contaminado; Corcho mohoso; Mohos de frutas y verduras	Pulmón del sótano, pulmón del trabajador de la cebolla; Pulmon del trabajador de la patata; pulmon del fruticultor; suberosis	Clasificación de patatas y cebollas; agricultores; Trabajadores del corcho; Estar en casas contaminadas
<i>Peziza domicilliana</i>	Mohos en el hogar y lugar de trabajo	NH de interior	Alojarse en espacios húmedos y mohosos
<i>Phoma spp.</i>	Mohos que contaminan la boquilla de instrumentos de viento		Musicos
Fitasa (enzima de <i>Aspergillus</i> o <i>Trichoderma</i>)	Fitasa en los piensos	NH por fitasa	Producción de piensos
<i>Poria megalospora</i>	Mohos en el hogar y lugar de trabajo	NH de interior	Alojarse en espacios húmedos y mohosos
<i>Rhizopus spp.</i>	Madera mohosa; serrín	Pulmón de carpintero; Pulmón de leña	Cortadores de madera; Trabajadores de la madera; Carpinteros.
<i>Serpula lacrymans</i>	Madera mohosa	NH de interior	Alojarse en espacios contaminados
<i>Sphaeropsidales</i>	Alojarse en espacios con aire acondicionado contaminado	Pulmón humidificador	Alojarse en espacios con aire acondicionado
<i>Sporobolomyces</i>	Heno, paja	Pulmón del granjero	Granjeros
<i>Sporothrix shenckii</i>	Madera enmohecida, piel animal (sporotricosis)	NH por hongos; Pulmón humidificador	Agricultores; Carpinteros; Jardineros; Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Stachybotrys chartarum</i>	Mohos en casas	NH de interior	Alojarse en espacios húmedos y mohosos

<i>Trichoderma coningii</i>	Madera mohosa, plantas, suelo; Piel animal (esporotricosis)	Pulmón de carpintero	Trabajadores de la madera, jardineros
<i>Trichoderma viride</i>	Crecimiento de moho en nebulizadores ultrasónicos, plantas, jardines, maderas, papel, frutas	Pulmón humidificador; NH de interior; Alveolitis de la viruta de madera, pulmón del granjero	Jardineros; Procesamiento de papel; Carpinteros; Fruta cítrica
<i>Ustilago esculenta</i>	Cereal humedecido	NH por hongos, pulmon del granjero	Granjero
<i>Wallemia sebi</i>	Heno, paja, plantas	NH por hongos, pulmon del granjero	Granjero
Levaduras			
<i>Candida spp.</i>	Humidificadores contaminados; heno; Casas contaminadas; cándida en intestino humano, piscinas, boquilla del saxofón, hongos en las uñas	Pulmón humidificador; Pulmón del agricultor; Alveolitis de los pies; alveolitis por cándida	Alojarse en espacios con aire acondicionado, agricultores; Músicos, pedicura; trabajador de piscinas y baños
<i>Geotrichum candidum</i>	Moho en la leche	NH de interior	Alojarse en espacios húmedos y mohosos
<i>Rhodotorula rubra</i>	Humidificadores contaminados, heno, casas contaminadas	Pulmón humidificador; NH de interior	Alojarse en espacios con aire acondicionado; Casas contaminadas
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Levadura de panadería; levadura; Levaduras de vino	Pulmón del agricultor; Alveolitis en polvo de levadura	Agricultores; producción de alimentos
<i>Saccharomonospora viridis</i>	Hierbas secas, hojas	Pulmón de techo de paja	Agricultor; Reparación de tejados de paja
<i>Saccharospora rectivirgula</i>	Heno mohoso, compost y champiñones	Pulmón del granjero, pulmon del productor de setas	Agricultores; Trabajadores de hongos
<i>Torulopsis glabrata</i>	Uñas y piel	Pulmon del podologo	Pedicura
<i>Trichosporon cutaneum</i>	Casas contaminadas	<i>Summer type alveolitis</i>	Alojarse en casas contaminadas
Bacterias			
<i>Acinetobacter sp. (Iwoffii)</i>	Agua contaminada; Líquido de la máquina contaminada	Pulmón del operador de la maquinaria	Operadores de máquinas
<i>Achromobacter</i>	Humidificadores contaminados	Pulmón humidificador	Trabajo en habitaciones con aire acondicionado
<i>Alcaligenes</i>	Aire acondicionado contaminados, plantas de tratamiento de aguas residuales	Pulmón humidificador	Trabajo en habitaciones con aire acondicionado; Trabajo de alcantarillado
<i>Bacillus sp.</i>			

<i>Bacillus subtilis</i> (<i>subtilisin</i>)	Detergentes; Agentes de limpieza biológicos; detergente en polvo	NH de los trabajadores de detergente	
<i>Cryptococcus albidus</i>	Casas contaminadas	<i>Summer type alveolitis</i>	Vivir en casas contaminadas
Endotoxina de aerosoles y fuentes de agua de piscinas	Agua contaminada		Pulmon del trabajador de piscinas
<i>Erwinia herbicola</i>	Heno, paja, liquen, plantas enmohecidos	Pulmón del granjero	Granjero
<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Lichtheimia corymbifera</i>			
Micobacteria no tuberculosa (<i>M. immunogenum</i> , <i>M. avium complex</i> , <i>M. chelonae</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. abscessus</i>)	Líquidos de la máquina contaminados; Fluidos de corte; Aceites de corte; instrumentos de viento; agua contaminada	<i>Hot tub lung</i> ; Alveolitis del hidromasaje, pulmon del operador de maquinaria, ; alveolitis del instrumento de viento	Operadores de máquinas, músicos, trabajadores del metal, jacuzzi
<i>Ochrobacter</i>	Líquidos de la máquina contaminada	pulmon del operador de maquinaria	Operadores de máquinas
<i>Phoma spp.</i>	Instrumentos de viento contaminados, Cortinas de ducha moho	Alveolitis de los instrumentos de viento, NH de interior	Músicos
<i>Pseudomonas spp.</i> (<i>fluorescens</i> , <i>aeruginosa</i>)	Líquidos de la máquina contaminados; Fuentes y humidificadores de interior contaminados	Pulmón del operador de la máquina; NH de interior	Operadores de máquinas; Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	Agua contaminada en planchas de vapor	Alveolitis de la plancha a vapor	Planchado de ropa
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	Fuentes de interior contaminadas, humidificadores e instrumentos de viento	Alveolitis de interior; Alveolitis por instrumento de viento	Músicos; Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Staphylococcus spp.</i>	Agua contaminada	Alveolitis del pulverizador	Agua nebulizada
<i>Streptomyces albus</i>	Compost contaminado, abono de huerto de setas, heno con estiércol	Granjero, productores de setas	Agricultores; Cultivo de setas.
<i>Streptomyces olivaceus</i>	Techos de paja enmohecidos	Enfermedad del techo de paja	Agricultores; Reparación de tejados de paja
<i>Streptomyces thermohygroscopicus</i>	Heno, paja	Pulmón del granjero	Granjero
<i>Thermoactinomyces candidus</i>	Humidificadores contaminados	Pulmón humidificador	Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Thermoactinomyces dichotomicus</i>	Heno, paja, plantas mohosas; Humidificadores contaminados	Pulmón del granjero	Granjero, Jardineros; Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Thermoactinomyces sacchari</i>	Caña de azúcar mohosa; Heno, paja, plantas mohosas, techo	Bagassosis; Pulmón del granjero;	Agricultores; Jardineros; Estar en habitaciones con aire

	de paja	Enfermedad del techo de paja	acondicionado; Procesamiento de bagazo; Trabajadores del algodón; Reparación de tejados de paja
<i>Thermoactinomyces viridis</i>	Humidificadores contaminados	Pulmón humidificador	Alojarse en habitaciones con aire acondicionado
<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>	Heno mohoso, caña de azúcar, compost, hongos, agua contaminada; techo de paja	Pulmón del granjero, bagassosis; pulmón del compost; Pulmón de techo de paja; Pulmón humidificador	Agricultores; Jardineros; Estar en habitaciones con aire acondicionado; Procesamiento de bagazo; Trabajadores del algodón; Reparación de tejados de paja
<i>Thermophile actinomycetes</i>	Polvo de esparto	Espartosis	Albañiles
<i>Ulocladium botrytis</i>	Instrumentos de viento contaminados	Alveolitis de instrumento de viento	Músicos
Mohos/bacterias			
Mohos/bacterias	Saxofones, trombón contaminados	NH de los instrumentos de viento	Músicos
Amebas			
Ameba	Humidificadores y sistemas de aire acondicionado contaminados		Pulmón humidificador; Aire acondicionado pulmón; Pulmón de la fuente de nebulización
Nematodes	Humidificadores y sistemas de aire acondicionado contaminados		Pulmón humidificador; Aire acondicionado pulmón; Pulmón de la fuente de nebulización
Acaros			
Acarus siro	Queso		Limpiadores de queso
II. PROTEINAS/ENZIMAS			
Proteínas animales			
Polvo de piel de animal	Pieles de animales	Pulmon del peletero	Peletero
Argan- productos derivados	Cosméticos, ácidos grasos fitosterol		Productos cosméticos
Excremento aviar, suero y plumas	Canarios; Periquitos Palomas; Loros pollo; Pavos; gansos; Patos; pájaros salvajes; Faisanes	Pulmon del cuidador de aves; Criadores de palomas; Criador de pollos	Aficionados a los pájaros; Criadores de aves; Fotógrafos de aves y médicos veterinarios; Vendedores de aves; Criadores de aves silvestres; Criadores de aves de corral; carnicería
Plumas aviares	Edredones de plumas, almohadas, camas, sofás	Pulmon del edredón de plumas (<i>Feather</i>)	Edredones de plumas, recolector de plumas, producción

		<i>duvet lung</i>)	de edredones o almohadones de plumas. Ecologistas
Murciélagos	Contacto con murciélagos		
Carmín (de <i>Coccus cactus</i>)	Alimentos y cosméticos	Alveolitis del carmin	Industria de procesamiento de alimentos, cosmética
Leche de vaca	Leche de vaca	Síndrome de Heiner	Lactantes alimentados con leche de vaca
Alimento para peces	Pulga de agua; carne; Larvas de mosquitos	Alveolitis de harina de pescado	Comerciantes de pescado; Producción de piensos para peces
Comida de pescado	Pienso	Alveolitis de harina de pescado	Producción de piensos; Procesamiento de pescado
Pancreas de cerdo	Alimentación animal		Industria farmacéutica
Proteínas de la pituitaria	Polvo hipofisario	Rape de hipófisis	Hormona pituitaria
Protozoos	Acondicionadores de aire contaminados	Pulmón humidificador	Personas que se alojan en habitaciones con aire acondicionado
Ratas y ratón de desierto (gerbo) orina, suero, pieles	Ratas y ratón de desierto (gerbo)	Alveolitis debida a proteínas de ratón y ratones	Manipuladores de ratas, Biólogos de trabajadores de laboratorio
Caracol de mar, ostra y Proteína de la concha de mejillón	Polvo de concha	NH por polvo de concha	Joyería; Procesamiento de nácar; Producción de joyas; Procesamiento de concha de ostra
Proteínas del gusano de seda	Polvo de las larvas y el capullo del gusano de seda	Pulmon del gusano de seda	Cría de gusanos de seda
Gorgojos (maíz, trigo) (insectos) (<i>Sitophilus spp.</i>)	Grano o harina contaminada	Pulmón del gorgojo del maíz (trigo)	Molineros, agricultores; panadería
Proteínas vegetales			
Alginato	Algas marinas		Trabajadores de algas marinas
Cathecine	Polvo de té verde		Procesadores de comida
Polvo de esparto	Esparto	Esparto pulmonar (Espartosis); Pulmón del yesero	Fabricación de papel, fabricación de cuerdas
Harina de grano (trigo, centeno, avena, maíz)	Polvo de harina	Alveolitis del polvo de harina	Molineros, panaderos
Malta	Industria de procesamiento de alimentos		Procesadores de alimentos
Legumbres (soja)	Polvo de harina de soja (legumbres)	Alveolitis de la soja	Industria del procesado de alimentos, trabajadores de

Pimenton	Polvo de pimentón	Pulmon de los cuarteadores de pimentón (paprika)	laboratorio (piensos). Cuarteadores de pimentón
Fitasa	Alimentación animal; Aditivo de alimentación de ganado		Criadores de animales
Piretro	Insecticida a base de plantas		Control de plagas (trabajo de desinfección, trabajo de control de plagas)
Espinacas	Espinacas en polvo		Procesamiento de alimentos
Chufa	Bebida Horchata (España)	Alveolitis de la chufa	Procesadores de comida; Fabricación de la bebida Horchata (España)
Madera	Partículas de madera	Alveolitis de fibra de madera	Carpinteros, carpinteros
Champiñones comestibles			
Setas (shiitake, bunashimeji, pleurotus, phiotita, shimeji, agaricus)	Setas (shiitake, bunashimeji, pleurotus, phiotita, shimeji, agaricus)	Setas (shiitake, bunashimeji, pleurotus, phiotita, shimeji, agaricus)	Setas (shiitake, bunashimeji, pleurotus, phiotita, shimeji, agaricus)
Lyophyllum	Lyophyllum	Lyophyllum	Lyophyllum
MATERIAS DE PARTÍCULAS INORGÁNICAS			
I. Productos químicos			
Acido anhídrido (Pyromellitic and trimellitic anhydrides)	Espumas de poliuretano, pinturas en aerosol, colas, adhesivos, colchones, partes de automóviles, zapatos, imitación de cuero, productos de caucho, aglomerado, fibras sintéticas elásticas, aislantes eléctricos	Alveolitis del acido anhídrido	Industria química y de poliuretano, pintura en aerosol, trabajo de fundición, lacado, pintura, trabajos de pavimentación, minería, impermeabilización y sellado, procesamiento de plástico, pulido de metal, cerrajería, curtidores, instalaciones eléctricas, Carpintería, industria aeronáutica
Metacrilato	Materiales dentales, laca, resina, colas	Alveolitis de metacrilato	Técnicos dentales
Sulfato de cobre	Sulfato de cobre, mezcla de Burdeos	Pulverizador viñedo	Trabajadores de viñedos
Tricloroetileno	Agentes desengrasantes, agentes de limpieza, agentes desincrustantes	Alveolitis química	Limpiadores, trabajadores químicos, trabajadores industriales
F talato de dimetilo, estileno	Disolventes industriales,		Fabricación de yates

	plastificantes		
HFC- 134a (<i>Tetrafluoroethane</i>)	Líquido refrigerante en los dispositivos de depilación láser	Pulmón del esteticien	Esteticistas, peluqueros
Isocianatos (<i>toluen diisocyanate, methylen diphenyl diisocyanate, hecamethylene diisocyanate, TMI, MIC, MMI, NDI, PI, CHI, polyisocyanate</i>)	Ver Acido anhídrido	Alveolitis por isocianato	Ver Acido anhídrido
<i>Tetrachlorophthalic y acido hexahidroftalico</i>	Endurecedor de resinas epoxi	Alveolitis del acido anhídrido	Ver Acido anhídrido
<i>Sodium diazobenzene sulfate</i>	Reactivo de laboratorio, cromatografía	Alveolitis química	Personal de laboratorio
<i>Triglycidyl isocyanurate</i>	Pinturas en polvo; Polvo de poliéster	Pulmón de pintor	Pintura
Agentes farmacéuticos			
Penicilinas, cefalosporinas	Industria farmacéutica		Trabajadores de la industria farmacéutica
Metotrexato Alfa interferón Lenalidomida Pravastatina Venfalaxina Temozolomida	Agentes inmunomoduladores; Agentes reductores del colesterol; Antidepresivos; Agentes antineoplásicos alquilantes		NH inducido por drogas
Metales			
Cobalto	Aleaciones de metales duros		Procesamiento de metales duros
Zinc (tungsteno y aleaciones)	Vapores de zinc	Alveolitis del zinc	Fundiciones de metal
Circonio	Circonio	Alveolitis de circonio	Industria cerámica
Berilio	Baterías, computadoras, neones	NH por berilio	Industria aeroespacial

FISIOPATOLOGIA

La NH se caracteriza, como se ha comentado con anterioridad, por una reacción inmuno-inflamatoria. La fisiopatología de esta reacción, esta a día de hoy, todavía en discusión. En el año 1962, Pepys et al, ²⁹ describieron por primera vez, esta reacción inflamatoria como consecutiva a la presencia de precipitinas circulantes frente a los antígenos causales de la enfermedad, en los pacientes que previamente habían sido sensibilizados.

Este hecho, sugeriría la presencia de un mecanismo de hipersensibilidad tipo III en el que

depósitos de complejos antígeno-anticuerpo se depositarían en las paredes alveolares. Por el contrario, la histopatología, la ausencia de hallazgos compatibles con vasculitis y la ausencia de infiltrado inflamatorio neutrofílico, no sustentarían esta hipótesis. Asimismo, en modelos animales, la transmisión de precipitinas circulantes en suero, seguido de una exposición antigénica, no ha podido reproducir la enfermedad.

Por otra parte, la presencia de infiltrado inflamatorio mononuclear (linfocitos T y macrófagos) y la presencia granulomas no necrotizantes, como hallazgos histopatológicos fundamentales en esta enfermedad, podría sugerir un mecanismo inmunológico de hipersensibilidad tipo IV como responsable, en el que los linfocitos T tendrían un papel principal ^{53 54}. Esta teoría se vería sustentada por la reproducibilidad de las lesiones histológicas tras transferencia de células sensibilizadas ^{55 56 57} en modelos animales, y por la determinación de un perfil linfocítico en el LBA.

El perfil celular del LBA en NH tras la exposición ⁵⁸ antigénica se caracteriza inicialmente por un aflujo de neutrófilos, alcanzando su nivel máximo tras 48 horas de la exposición, seguido de un incremento de células T activadas (CD4). Posteriormente existe un incremento de macrófagos y linfocitos (48-72h). Este perfil celular se asocia con un incremento de mediadores inflamatorios; la proteína inflamatoria de macrófagos (PIM) 1 α , factor quimiotáctico de linfocitos, se incrementa de forma precoz tras la exposición (4-6h), mientras que el proteína quimiotáctica de monocitos (PQM) 1 se incrementa posteriormente, entre las 48 y 72 horas. La redistribución celular desde sangre periférica, y la proliferación *in situ* de linfocitos contribuyen a incrementar el número de células T a nivel pulmonar, mientras que las especies reactivas del oxígeno producidas por los macrófagos contribuyen al daño alveolar ⁵⁹.

El desarrollo de esta respuesta inmune T a través de la vía Th1 estaría mediada principalmente a través de la IL-12, interleuquina producida principalmente por el macrófago activado, si bien otras interleuquinas como la IL8 y el factor de necrosis tumoral α (TNF α) también estarían implicadas. A su vez, los linfocitos Th1 producirían interferón γ (INF γ) que a su vez, activaría a los macrófagos y favorecería la diferenciación de células T citotóxicas. Diversos estudios de biopsias pulmonares de pacientes con NH han identificado la activación de quimiocinas CXCL9 y CXCL10, las cuales activan al ligando de INF γ y CXCR3, receptores de quimiocinas Th1, que

a su vez respaldarían una respuesta Th1 como responsable de esta entidad, como el mecanismo principal de desarrollo en su patogénesis ⁵⁸. Paralelamente, diversos estudios han identificado células *natural killer* en el LBA de pacientes con NH; estas células secretarían IL4 e IFN γ que modularía el balance Th1/Th2 ⁵⁹. Por otra parte, la unión del antígeno con el receptor de células B y la estimulación directa del linfocito Th a través del antígeno, vía CD40 ligando, podría contribuir a la activación de la respuesta humoral presente en la NH, responsable de la generación de anticuerpos IgG específicos presentes en sangre periférica de estos pacientes.

Otros estudios abogan que no solo se trate de una respuesta Th1 como responsable, sino que también podría existir una respuesta Th2 en la patogenia de la enfermedad. En este sentido, Selman et al, a través de un estudio de microarrays de biopsias pulmonares de individuos NH, en 2006, identificaron la activación de IL-17, expresado a través de células Th17 ⁵⁸. En este sentido, otros estudios han evidenciado niveles elevados de IL17A mRNA en tejido pulmonar así como IL17A en sangre periférica y LBA ⁶⁰. A favor de estos hallazgos, iría la identificación de un incremento de la expresión de CXCR4 – receptor Th2- y un descenso en la expresión de CXCR3, así como un aumento de los niveles de IL4 objetivados en el LBA de pacientes NH ⁶¹ así como el hallazgo de niveles elevados de IL 4 e IL13 en LBA de pacientes NH comparado con controles sanos ⁶². Finalmente, la evidencia de fibrocitos circulantes en pacientes NH respecto a individuos sanos, a través del eje CXCR4/CXCL12, ⁶³ apoyaría la implicación fisiopatogénica de la vía Th2, postulándose una vía patogénica similar de la NH crónica y la FPI, lo que a su vez reforzaría la hipótesis de un potencial rol de los fibrocitos en esta enfermedad ⁶⁴.

Finalmente, factores genéticos individuales deben conferir susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad. Diferentes polimorfismos genéticos del complejo HLA han sido asociados con el desarrollo de NH ⁶⁵. Polimorfismos en el inhibidor tisular de metaloproteinasa 3 han demostrado conferir resistencia al desarrollo de NH ^{66 67}, si bien no existen estudios suficientes en este sentido ⁶⁵.

FORMAS CLÍNICAS

De forma clásica, la presentación clínica de la NH se ha dividido en tres categorías: aguda, subaguda, y crónica ⁶⁸, si bien, en realidad la forma de presentación será con hallazgos clínicos, radiológicos y anatomopatológicos difíciles de encuadrar tan solo en una de las categorías ⁶⁹. El espectro clínico de la enfermedad dependerá fundamentalmente de factores individuales de susceptibilidad, y del grado y frecuencia de la exposición antigénica.

Así, la **forma aguda**, resultado generalmente de una exposición intensa al antígeno, se caracteriza por un cuadro de características generales (mal estar general, astenia, fatiga), disnea, fiebre y tos seca, que tiende hacia la recuperación espontánea en las siguientes 24-48 horas tras el cese de la exposición. El inicio de los síntomas tiene lugar de 2-9 horas tras la exposición, alcanzando su pico máximo entre las 6 y 24 horas. Durante este episodio agudo, es frecuente la instauración de insuficiencia respiratoria hipoxémica e hipocápnica ⁶⁸.

La **forma subaguda**, resultante de una exposición menos intensa, pero continua en el tiempo, durante periodos de semanas o meses, se caracteriza por la presencia de disnea, fatigabilidad, tos con expectoración mucosa, anorexia y pérdida de peso; la febrícula puede estar presente semejando un cuadro pseudo-tuberculoso ⁶⁸.

La **forma crónica**, en cambio, puede desarrollarse en dos entornos diferentes ⁷⁰. Puede ser consecuencia de una exposición antigénica cuantitativamente de bajo nivel, mantenida en el tiempo. En este caso, se caracteriza por cursar con un cuadro clínico insidioso, con intolerancia progresiva al esfuerzo, tos seca y pérdida de peso. La correlación de los síntomas en esta forma de NH crónica, con una exposición antigénica es compleja, pudiendo ser diagnosticada erróneamente como FPI u otro trastorno pulmonar fibrótico avanzado si no se realiza un historial cuidadoso y no se realizan estudios específicos ¹. La segunda forma de desarrollar NH crónica es a través de episodios recurrentes no diagnosticados agudos o subagudos de la enfermedad ⁷⁰.

El examen físico, revela la presencia de crepitantes secos inspiratorios bibasales en cualquiera de las formas de presentación clínica de la NH. Los sibilantes teleinspiratorios provocados por la obstrucción de las vías aéreas de pequeño calibre (*chirping rales*), pueden también estar presentes. La presencia de acropaquia, descrita hasta en un 20-50% de los casos ¹ suele ser signo de mal pronóstico y predecir el deterioro clínico ⁷¹. La evolución natural será hacia la instauración de fibrosis pulmonar, con insuficiencia respiratoria hipoxémica, hipertensión pulmonar y cor pulmonare si no existe intervención terapéutica ⁶⁸, si bien, en esta forma de enfermedad, la evitación antigénica, no detiene *per se* la evolución de la enfermedad.

La distinción entre los estadios clásicos de enfermedad es a menudo difícil, dado que diferentes formas pueden coexistir en un mismo individuo, por tratarse de diferentes estadios de una misma enfermedad ¹⁰. Por este motivo, se ha propuesto una clasificación alternativa, dividiendo a los pacientes en dos clústers: ⁷²

Clúster 1: pacientes con síntomas sistémicos recurrentes (malestar general, escalofríos) tras 4-8h desde la exposición antigénica, con un estudio radiológico sin hallazgos; el pronóstico tras la evitación antigénica sería favorable.

Clúster 2: pacientes con síntomas persistentes, desarrollo de acropaquia, hipoxemia, patrón restrictivo en el estudio de función pulmonar, y presencia de fibrosis en el estudio radiológico. El pronóstico de este subgrupo de pacientes sería desfavorable.

Si bien el Clúster 1 podría englobar a aquellos pacientes con formas clínicas aguda y subaguda, mientras que el Clúster 2 podría corresponder a la forma crónica de la enfermedad, esta correlación no ha sido confirmada ⁶⁹.

Muy recientemente, se ha propuesto una nueva clasificación considerando únicamente la forma aguda y crónica de la enfermedad, en la que se describen las características clínicas, radiológicas y anatomopatológicas de cada una de las categorías ². Esta clasificación se resume en la Tabla 2.

Tabla 2. Nueva clasificación de NH. Modificado de Vasacova et al. ²

	Clínica	Patrón radiológico en TCAR	Patrón histológico
NH aguda.			
Duración de los síntomas pocas semanas/meses < 6 meses (≈ 24 semanas)	Reversible Resolución completa posible Síntomas relacionados con la exposición al agente causal que pueden resolverse completamente después de la evitación antigénica (frecuentemente observada en NH ocupacional)	Patrón micronodular centrilobular difuso y opacidades de vidrio predominantemente en lóbulos superiores y medios, nódulos centrilobulares mal definidos; patrón en mosaico, atrapamiento aéreo o raramente consolidación	NH Inflamatoria (celular): Infiltrado linfoplasmocítico/mononuclear (macrófagos) Infiltrado linfocítico centrado en vía aérea/ peribronquiolar Granulomas poco formados Células gigantes multinucleadas NINE celular-like
NH crónica			
Duración de los síntomas generalmente mas de 6 meses (>≈ 24 semanas)	Potencialmente reversible Riesgo de progresión	Fibrosis predominantemente en lóbulos superiores y medios, fibrosis peribroncovascular, panalización, mosaico, atrapamiento aéreo, nódulos centrilobulares y relativa preservación de bases	NH fibrótica: NIU like NINE fibrótica –like Fibrosis centrada en vía aérea Inclasificable Los signos histológicos de NH inflamatoria pueden presentarse sobre una base fibrótica.

DIAGNÓSTICO

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

Hasta la actualidad, no existen unos criterios diagnósticos validados para el diagnóstico de NH, requiriendo para ello, inicialmente, de un alto índice de sospecha por parte del clínico. Una detallada historia de exposiciones ocupaciones y domésticas (directas o indirectas) es esencial ^{1 2} especialmente en el caso de la NH crónica, en la que, como hemos comentado con anterioridad, en ocasiones la correlación con la exposición antigénica puede ser compleja, debido a su lejanía en el tiempo, o su baja intensidad.

El diagnóstico de esta entidad, engloba de forma general, diferentes aspectos: En primer lugar, la demostración de un estímulo antigénico responsable a través de una historia clínica sugestiva y/o positividad de las precipitinas en el suero del paciente. En segundo lugar, la demostración de hallazgos radiológicos y estudios de función pulmonar compatibles. En tercer lugar, la presencia de infiltrado inflamatorio de predominio linfocitario, en forma de linfocitosis en LBA y/o hallazgos anatomopatológicos característicos en muestras de tejido obtenidas por biopsia transbronquial (BTB)/criobiopsia y/o biopsia pulmonar quirúrgica (BPQ).

Si bien no existen unos criterios diagnósticos estandarizados, probablemente en la práctica clínica habitual los criterios mas extendidos, para el diagnóstico de NH son los propuestos por Schuyler y Cormier ⁷³ en el año 1997. Los autores definieron una serie de criterios mayores y menores para el diagnóstico de la NH, detallados en la Figura 1. Para establecer el diagnóstico de NH es preciso que estén presentes al menos 4 criterios mayores y 2 criterios menores, habiendo sido descartadas otras patologías de características similares.

Figura 1. Criterios diagnósticos de NH. Adaptado de Schuyler y Cormier ⁷³.

Criterios Mayores:

- 1) Síntomas compatibles con NH.
- 2) Evidencia de exposición antigénica apropiada a través de historia y/o detección de precipitinas específicas en suero y/o LBA.
- 3) Hallazgos compatibles con NH en radiología simple de tórax o TCAR torácico.
- 4) Linfocitosis en LBA (si se practica LBA).
- 5) Cambos histológicos compatibles con NH.
- 6) PIE positiva (reproducción de la sintomatología y alteraciones de laboratorio tras la exposición al antígeno sospechoso).

Criterios Menores:

- 1) Crepitantes bibasales.
- 2) Disminución de la capacidad de difusión de CO.
- 3) Hipoxemia arterial, al menos tras ejercicio.

Abreviaturas: NH: neumonitis por hipersensibilidad; LBA: lavado broncoalveolar; TCAR: tomografía computerizada de alta resolución; PIE: prueba de inhalación específica.

Posteriormente, un estudio multicéntrico llevado a cabo por el *Hypersensitivity Pneumonitis Study Group* en el año 2003, definió una serie de predictores clínicos de la enfermedad. Se analizó la significancia estadística de una serie de síntomas y signos clínicos, valores de laboratorio, estudio funcional y radiológico en pacientes con NH comparado con sujetos sanos.

Estos predictores clínicos, resumidos en la Figura 2, tendrían una sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de NH del 86% respectivamente, cuando los 6 factores están presentes ¹⁷. Los autores postulan que estos predictores clínicos, serían aplicables en las formas aguda y subaguda, especialmente en áreas de alta prevalencia ¹, si bien, no serían válidos en los casos de NH crónica o formas inactivas de la enfermedad ¹⁷.

Figura 2. Predictores clínicos de NH. Adaptado de Lacasse et al. ¹⁷

1. Exposición a agente causal conocido
2. Presencia de precipitinas séricas específicas
3. Episodios recurrentes de síntomas
4. Crepitantes inspiratorios
5. Síntomas tras 4-8h de la exposición
6. Pérdida de peso

Recientemente, Johansson et al ⁷⁴ propusieron un modelo de predicción clínica para el diagnóstico de NH crónica basado en una combinación de historia de exposición aviar, características clínicas y radiológicas compatibles con NH crónica, sin necesidad de estudio anatomopatológico o de LBA. Sin embargo, este estudio, limitó su análisis a las exposiciones aviares, lo que podría limitar su aplicabilidad clínica, especialmente en aquellos casos en los que no es posible identificar una exposición ².

En el año 2004, Selman et al. ¹ describieron una serie de criterios diagnósticos para la enfermedad, haciendo una diferenciación en función de la forma clínica de presentación. Estos criterios se resumen en la Figura 3.

Figura 3. Criterios diagnósticos de NH. Adaptado de Selman et al. ¹

Criterios diagnósticos para NH aguda

1. Evidencia de exposición, documentada por historia clínica y anticuerpos específicos (cuando existe disponibilidad del test).
2. Síndrome pseudogripal.
3. Incremento de linfocitos y neutrófilos en el LBA.
4. Parcial pero significativa mejoría tras apartar al paciente de la exposición ambiental sospechosa y empeoramiento de los síntomas tras la re-exposición.

Criterios diagnósticos para NH subaguda

1. Evidencia de exposición con una relación causa-efecto y determinación de precipitinas positivas frente al antígeno causal.
2. Linfocitosis en el LBA (usualmente superior al 50%)
3. Patrón micronodular difuso con atrapamiento aéreo y vidrio deslustrado en el TCAR.

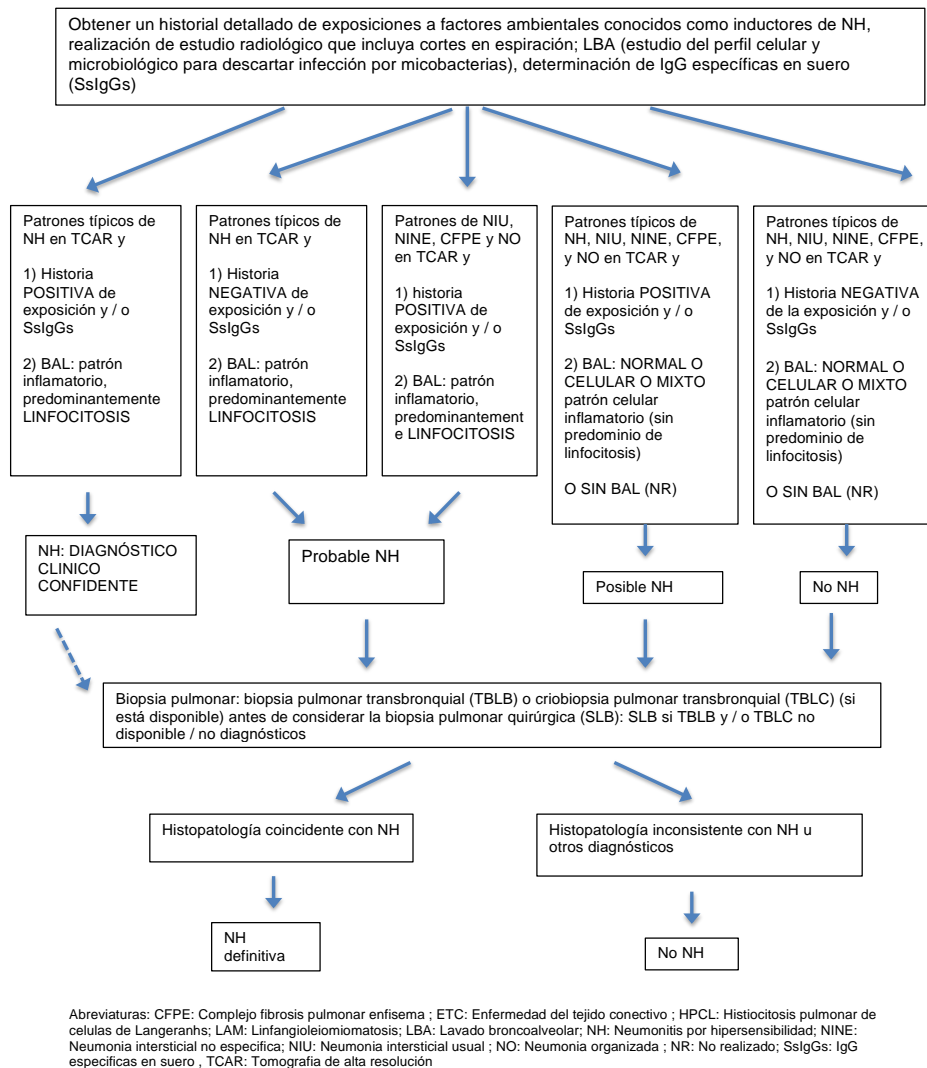
Criterios diagnósticos para NH crónica (en asociación a los criterios mencionados en NH subaguda)

1. Prueba de inhalación específica (ambiental o en laboratorio) frente al antígeno sospechoso.
2. Biopsia pulmonar.

Abreviaturas: NH: neumonitis por hipersensibilidad; LBA: lavado broncoalveolar; TCAR: tomografía computerizada de alta resolución.

Finalmente, en un reciente consenso internacional, se ha propuesto un nuevo algoritmo diagnóstico para NH (Figura 4). La recomendación de la utilización de técnicas inmunológicas en el diagnóstico de NH, como la determinación de IgG específicas y la realización de PIE, son datos diferenciales respecto a trabajos anteriores, si bien, la PIE no es incluida en el algoritmo diagnóstico. En este consenso, la realización de la PIE se plantea como herramienta diagnóstica útil en aquellos pacientes en los que el estudio anatomopatológico no es factible, o bien cuando éste no es diagnóstico. También se propone su realización para la confirmación etiológica del agente antigénico. ² .

Figura 4. Algoritmo diagnóstico para neumonitis por hipersensibilidad. Modificado de Vasakova et al. ²



Así pues, el diagnóstico de NH continúa en la actualidad siendo un desafío, especialmente en las formas crónicas, debido a la falta de criterios clínicos estandarizados, y a la ausencia de hallazgos específicos. En este sentido, el diagnóstico diferencial con la FPI es el escenario más complejo.

Atendiendo a estos hechos, uno de los objetivos de la presente tesis doctoral, ha sido estudiar las características diferenciales entre ambas entidades, e identificar, con la utilización de todas las herramientas diagnósticas de las que disponemos, aquellos casos de NH crónica que podrían pasar desapercibidos en forma de FPI.

SENSIBILIZACIÓN: DETERMINACIÓN DE IgG ESPECÍFICAS, PRUEBAS CUTÁNEAS DE HIPERSENSIBILIDAD INMEDIATA Y TEST DE ACTIVACIÓN LINFOCITARIA

La respuesta inmune es sin duda la base de la enfermedad. La determinación de IgG específicas, a través de técnicas cualitativas (precipitinas, inmunoelectroforesis) ⁷⁵, o cuantitativas (ELISA; Inmunocap, Immulite) ⁷⁶ contra extractos antigénicos sospechosos, está reconocido como marcador de exposición y sensibilización, pero no es *per se* diagnóstico de enfermedad ¹⁹. Así, si bien la determinación de un test positivo en una población expuesta no es diagnóstico, la presencia de IgG negativas tampoco descarta por sí mismo el diagnóstico de la enfermedad, dado que en hasta un 10-15% de los casos la determinación de IgG específicas pueden resultar negativas frente a los antígenos testados ^{77 78}. En este sentido, Costalel et al ⁷⁸ demostraron que entre un 30-60% de trabajadores sanos de una cohorte de granjeros, desarrollaron IgG específicas frente a los antígenos a los que se encontraban expuestos. Así, la determinación de IgG específicas podría ser particularmente útil en situaciones de probabilidad baja o media de enfermedad ⁷⁹. A la inversa, un resultado positivo en un paciente aparentemente no expuesto, podría ser indicativo de la existencia de una fuente de exposición aparentemente no conocida, o que ha pasado desapercibida. Pese a su rendimiento diagnóstico, la mayor limitación de la determinación de IgG específicas en suero es la falta de disponibilidad de preparaciones antigénicas validadas para la mayoría de los agentes causales de NH ⁸⁰.

Paralelamente, algunos trabajos sugieren que la determinación de los niveles de IgG específicas es dependiente además del intervalo desde la última exposición al agente causal ⁸¹. En la EPG las IgG específicas frente a los antígenos causales están presentes hasta en un 75-100% de los casos durante un episodio agudo, pero tan solo en un 50% tras dos años del mismo, y en un tercio de los casos tras 5 años de la exposición ⁸². Por otra parte, en el PCA los títulos de IgG específicas pueden descender de forma marcada tras la evitación antigénica ⁸¹. En este sentido, en la enfermedad aguda con exposición reciente, la determinación de IgG específicas podría ser altamente sensible, pero esta sensibilidad se reduciría de forma marcada

en las formas crónicas de la enfermedad. La escasa información relacionada con la respuesta antigénica en población general, así como el desconocimiento de la cantidad de exposición necesaria para inducir una respuesta IgG específica hacen que el empleo de esta técnica en el diagnóstico de NH continúe siendo controvertido ⁸³.

Otra técnica empleada para el estudio de la sensibilización frente al extracto antigénico, es la prueba cutánea de hipersensibilidad inmediata. Se trata de la inoculación intradérmica del extracto antigénico, y la lectura de la pápula formada a los 15 minutos. Si bien algunos trabajos describen su utilidad en el diagnóstico de NH, su uso no está extendido. El empleo de estas pruebas cutáneas se ha demostrado útil para discriminar entre personas expuestas y afectas tanto en el caso de la NH del PCA como en la EPG, con una sensibilidad del 83% y especificidad del 72% en el caso de la EPG ⁸⁴, y del 90% y 85% respectivamente para la enfermedad del PCA ⁸⁵. En una reciente revisión, se ha comprobado además una relación entre los títulos de IgG específica en suero y el diámetro de la pápula resultante en la reacción practicada por intradermoreacción en pacientes con PCA ¹². A pesar de ello, se trata de una técnica que hoy en día está en desuso, no por su falta de rendimiento diagnóstico sino por su falta de estandarización.

Finalmente, la experiencia actual con técnicas que determinan la activación linfocitaria a través de la estimulación antigénica es escasa, pero algunos trabajos han demostrado resultados esperanzadores ^{14 54 86}. La evaluación del índice de proliferación de células mononucleares de sangre periférica tras estimulación antigénica específica, en pacientes con NH crónica y determinación de IgG específicas en suero negativas puede apoyar el diagnóstico en el PCA ⁸⁷. Un estudio demostró que el test de inhibición leucocitaria, indicador de la estimulación de linfocitos, aplicado en el diagnóstico de la EPG, proporcionaba resultados positivos en un 95% de los pacientes mientras que tan solo un 44% de controles obtenían este resultado ($p < 0.005$) ⁵⁴. El test demostró ser más eficaz que la determinación de anticuerpos específicos en el diagnóstico de la EPG ⁵⁴. Los mismos resultados se obtuvieron tras el empleo de la técnica en el diagnóstico de PCA, demostrándose resultados positivos en 10 de 12 (83%) de los pacientes y tan solo en 1 de 7 (14%) de los controles sanos ($p < 0.02$) ⁵⁴. Así pues, si bien se trata de una

técnica laboriosa, su utilidad en el diagnóstico de la NH hacen de esta técnica una herramienta a tener en cuenta en el estudio de la enfermedad.

FUNCIÓN PULMONAR

Los estudios de función pulmonar en NH muestran de forma característica un patrón ventilatorio restrictivo, con disminución de la capacidad pulmonar total y la capacidad vital forzada. La disminución de la capacidad de difusión de CO se ve afectada de forma precoz,¹² sin que, en ocasiones, esté alterada todavía la capacidad vital forzada⁶⁸. En la fase crónica de la enfermedad, se puede objetivar además una disminución de flujos medios espiratorios, que, en nuestra experiencia, podría ser atribuido a la presencia de bronquiolitis. El desarrollo de obstrucción crónica al flujo aéreo, con disminución del cociente FEV1/FVC y aumento progresivo del volumen residual, ha sido también descrita, siendo especialmente frecuente en la EPG. Esta afectación de la vía aérea puede ocurrir de forma simultánea, previa o posterior a la afectación del parénquima pulmonar⁸⁸. En este sentido, Bourke et al⁸⁹ hallaron una prevalencia de bronquitis crónica en el 26% en individuos no fumadores, en una serie de cuidadores de palomas, siendo la única manifestación de la enfermedad en los casos de NH hasta en un 8%. Más recientemente, en un estudio realizado por Erkinjuntti et al,⁹⁰ hallaron una prevalencia del 23% de bronquitis crónica en granjeros afectados de NH, y del 19% en trabajadores asintomáticos expuestos. La mayoría de ellos eran no fumadores en ambos grupos (88% y 79% respectivamente). La asociación de patología obstructiva en este grupo poblacional, se ha demostrado de forma global, más frecuente que en la población general, planteándose la hipótesis de una posible causa inmunoalérgica como responsable de la obstrucción⁹¹. La coexistencia de NH con el hábito tabáquico en este grupo poblacional, podría ser un factor de riesgo añadido⁹⁰.

En los casos avanzados de la enfermedad, la prevalencia de enfisema no es despreciable. En este sentido, Lalancette et al⁹² describieron en un estudio realizado sobre 33 pacientes afectados de enfermedad del pulmón de granjero, una prevalencia de enfisema del 27%. Posteriormente, Erkinjuntti-Pekkanen et al.⁹³ en un estudio realizado sobre 88 pacientes afectados de EPG y 83

granjeros sanos, con un seguimiento desde el diagnóstico a 14 años, objetivaron una prevalencia de enfisema mayor en el grupo de trabajadores enfermos (23%) respecto al de trabajadores sanos (7%). Morell et al.¹² en una serie de 86 pacientes con PCA, demostraron que, aunque la restricción es la alteración funcional más frecuente, puede existir obstrucción bronquial hasta en un 9% de los casos, con presencia de enfisema radiológico hasta en un 17% de los casos. Asimismo, su seguimiento a lo largo del tiempo, mostró persistencia de la obstrucción crónica. Resultados similares han sido reportados por Hanak et al. en una revisión de un conjunto de 85 pacientes con diversas formas de NH, en los que objetivaron una obstrucción crónica al flujo aéreo en un 13% de los pacientes, presentando hasta en un 4% de los casos criterios de gravedad³. Por tanto, en el diagnóstico diferencial de la obstrucción bronquial, o bien del enfisema de origen incierto, cabe valorar la posibilidad de una NH como patología causal.

RADIOLOGÍA

El estudio radiológico convencional, ha demostrado una baja sensibilidad para el diagnóstico de la NH, especialmente en las formas precoces de la enfermedad⁹⁴. La TCAR se muestra como la técnica radiológica de elección para el diagnóstico de esta patología⁹⁵.

De forma característica, las **formas agudas** se acompañan de infiltrados pulmonares parcheados y difusos en vidrio deslustrado y ocasionalmente áreas de consolidación alveolar. El infiltrado nodulillar o reticulonodulillar es característico de las formas subagudas acompañado de un infiltrado en vidrio esmerilado. La realización de cortes espiratorios revela la existencia del característico patrón en mosaico sugestivo de afectación de pequeña vía aérea. La combinación de nódulos centrolobulillares, atrapamiento aéreo y áreas en vidrio deslustrado son diagnósticas desde el punto de vista radiológico⁹⁶.

En general, la **forma crónica**, se caracteriza por la existencia de un infiltrado reticular periférico, distorsión de la arquitectura pulmonar, bronquiolectasias de tracción, y en ocasiones evolución hacia la panalización¹. Este hallazgo, puede estar presente en más de un 50% de

los casos de NH crónica ⁹⁷. La distribución preferente de las lesiones según la mayoría de los estudios, afecta a lóbulos superiores a diferencia de otras enfermedades pulmonares difusas con afectación preferente de campos medios e inferiores como la FPI. Sin embargo, en algunos casos la afectación radiológica en las formas crónicas, puede ser en forma de patrón de neumonía intersticial usual (NIU) según la reciente descripción proporcionada por Raghu et al. ⁹⁸ incluyendo la presencia de panalización, afectación reticular, distribución subpleural y basal con ausencia de hallazgos inconsistentes con NIU ⁹⁹. Otros patrones radiológicos descritos como posibles formas de presentación de la NH son el patrón de neumonía organizada (NO), el patrón de neumonía intersticial no específica (NINE) ² y, más recientemente el patrón del complejo fibrosis pulmonar-enfisema (CFPE) ².

Por otra parte, en contra de la idea clásica de la existencia de áreas en vidrio deslustrado como representativa de actividad de la enfermedad ¹⁰⁰, este patrón puede estar presente en las tres formas clínicas, aguda, subaguda y crónica ¹². En contraste, el patrón en mosaico es más frecuente en las formas agudas (58%) y subaguda (75%) de la enfermedad, respecto a la forma crónica (33%) ¹². Finalmente, en las formas avanzadas, es posible hallar signos de obstrucción crónica al flujo aéreo, o incluso zonas de afectación enfisematosa difusa ^{1 3 12}, tal y como se comentaba con anterioridad. Este hallazgo en el TCAR había sido descrito fundamentalmente en pacientes fumadores afectados de NH, en la EPG, donde la evolución hacia enfisema, puede ser incluso más frecuente que hacia fibrosis ¹⁰¹ y menos frecuentemente en el PCA. Sin embargo, como se ha mencionado, en el PCA se ha comprobado la presencia de áreas de enfisema pulmonar hasta en un 17% de los casos, en pacientes sin factores de riesgo añadidos ¹².

Figura 5. TCAR torácico compatible con NH aguda. Corte axial.

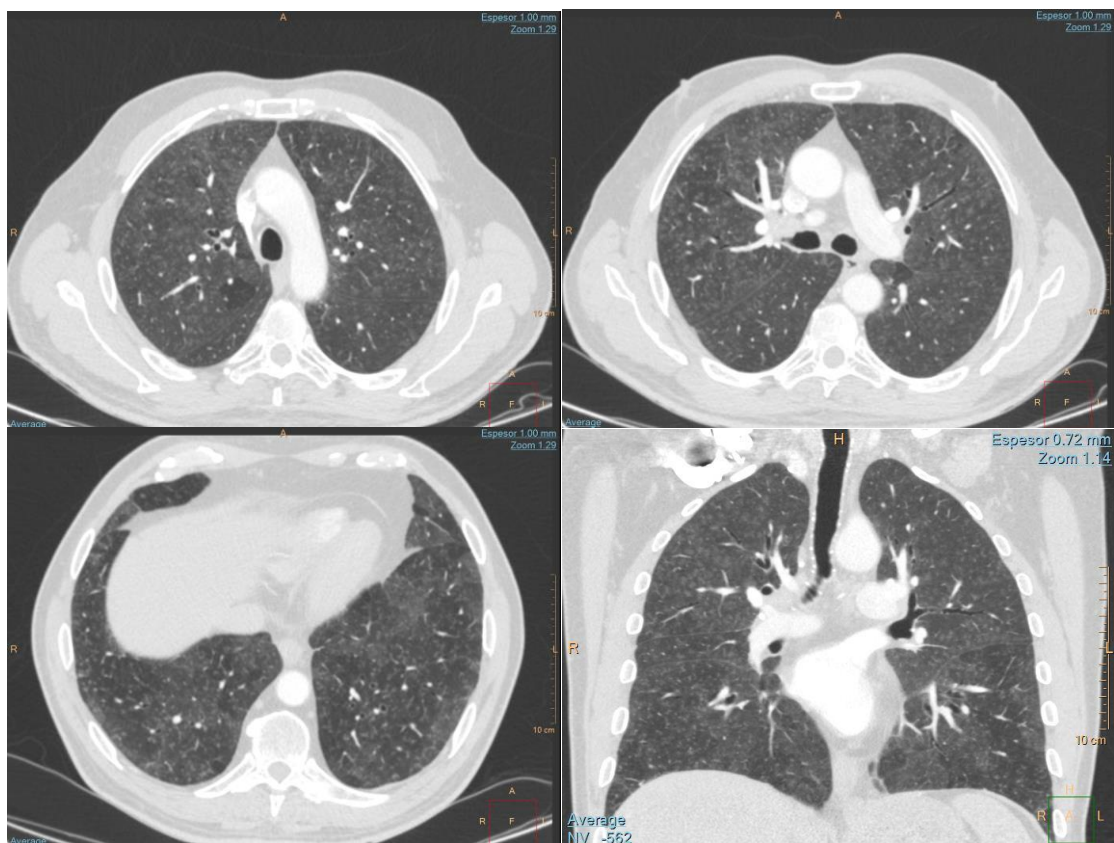


Figura 6. TCAR torácico compatible con NH crónica. Corte axial.

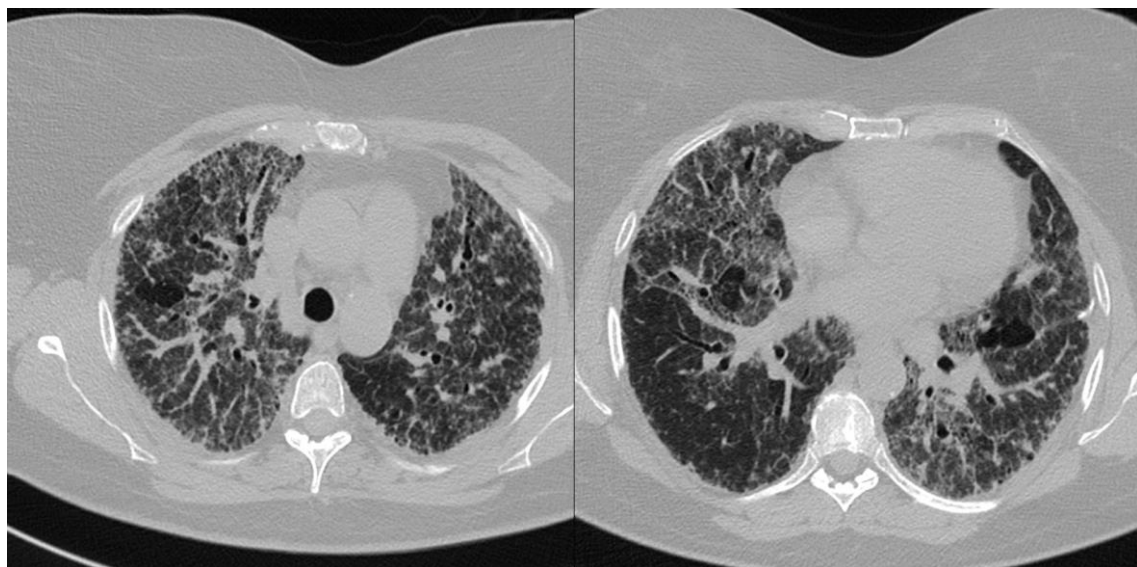
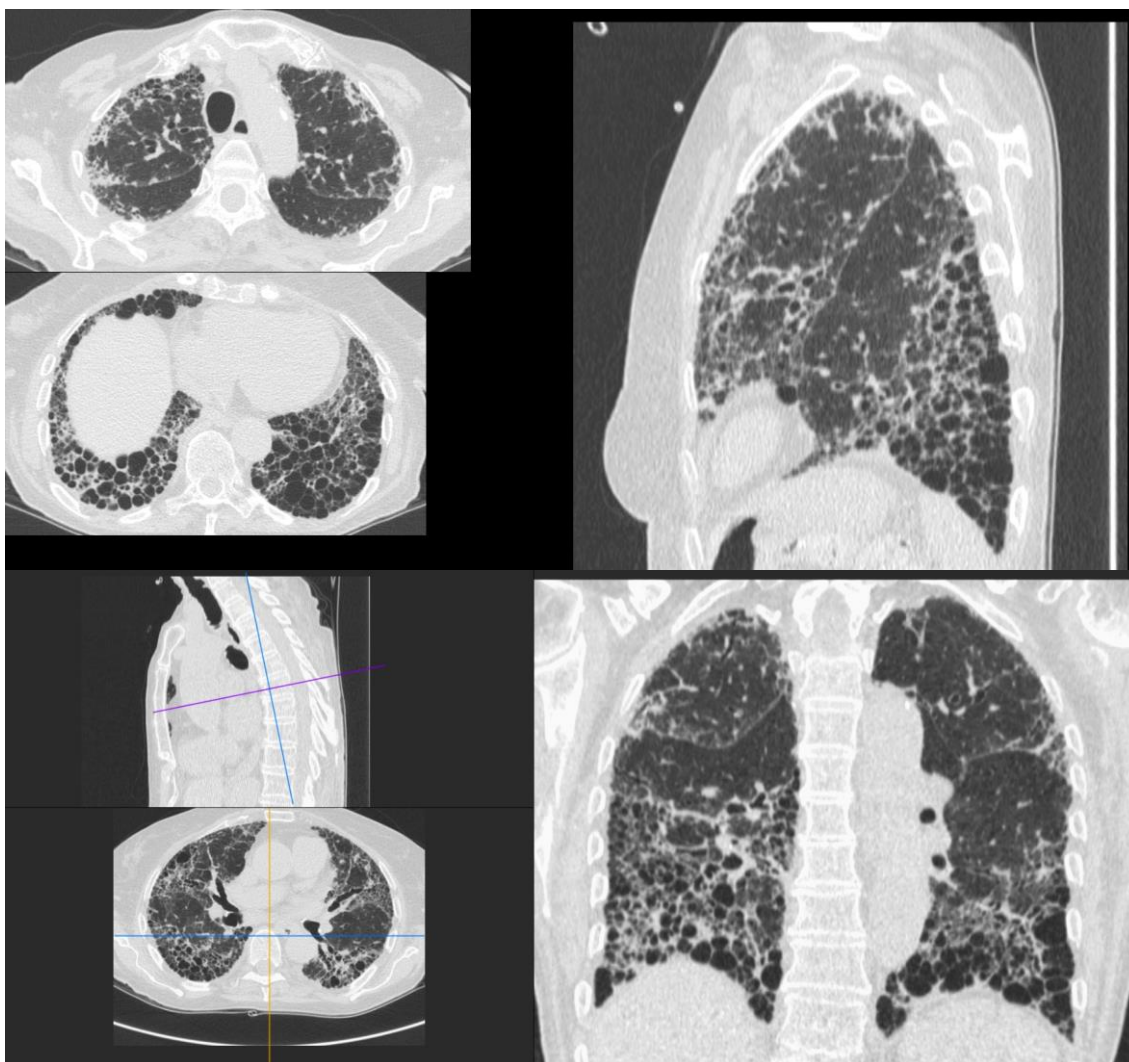


Figura 7. TCAR torácico compatible con patrón de NIU. Corte axial y coronal.



LAVADO BRONCOALVEOLAR

El recuento celular en el LBA puede ser de gran ayuda en el diagnóstico, siendo un procedimiento habitualmente utilizado en el diagnóstico de pacientes con enfermedad pulmonar intersticial ¹⁰². Sin embargo, el empleo de esta técnica depende en gran medida del área geográfica, dado que si bien en los principales centros europeos es una técnica de rutina en el estudio diagnóstico de las EPI, su uso en Estados Unidos sigue siendo controvertido. En este sentido, en las recientes guías para el diagnóstico de FPI, no se recomienda su práctica sistemática, reservando su uso al diagnóstico diferencial de enfermedades alternativas según juicio clínico ⁹⁸.

La presencia de un patrón linfocítico en el LBA es altamente sugestivo de enfermedades granulomatosas, especialmente la constatación de una linfocitosis superior del 25% que será característica de sarcoidosis y de NH; si bien también ha sido descrito en entidades como la beriliosis, toxicidad por fármacos, NINE, neumonía organizada, neumonía linfoidea y linfoma, neumonitis por radiación, poliangeitis granulomatosa (anteriormente llamada granulomatosis de Wegener), enfermedad de Chron, y cirrosis biliar primaria ¹⁰³. La presencia de un recuento celular diferencial con un 50% o más de linfocitos es altamente sugestiva de NH o NINE celular, con un ratio de linfocitos T CD4:CD8 <2 ¹⁰⁴ en la primera. La identificación de un ratio de linfocitos T CD4:CD8 $> 3,5$ se considera en cambio altamente sugestiva de sarcoidosis, con una sensibilidad del 52% y especificidad del 94% según algunos trabajos ¹⁰⁵. A pesar de lo referido anteriormente, en la actualidad, el estudio de la relación CD4/CD8, no se recomienda en la NH, dado que la relación varía según la exposición y el estado de la enfermedad. Así, una relación normal o elevada no excluye el diagnóstico de NH en un contexto clínico adecuado ⁶⁵ ¹⁰⁶.

A medida que la enfermedad avanza hacia la fibrosis pulmonar también se reduce la cifra de linfocitos en el LBA ⁶; en todo caso un 80% de las NH crónicas aun mantienen un porcentaje de linfocitos en el LBA superior al 20% ¹² ¹⁰⁶. En cambio, el hallazgo de neutrofilia en el LBA en ausencia de infección, y acompañada o no de la presencia de cifras elevadas de eosinófilos, está presente en un 70-90% de los casos de FPI, habiéndose relacionado este hallazgo con el grado de extensión de la fibrosis según algunos estudios ¹⁰³ ¹⁰⁴ ¹⁰⁷. De todas formas es importante tener en cuenta, que si bien no es un hallazgo característico de NH, en las primeras fases post exposición, la neutrofilia puede también estar presente ¹⁰⁸. Así, si bien el LBA puede ser de utilidad en el diagnóstico diferencial entre ambas entidades, no siempre es específico. En cualquier caso, ante un paciente con FPI en el que se comprueba una cifra elevada de linfocitos en el LBA se debe intensificar la búsqueda de una eventual NH crónica.

Otros perfiles del perfil inflamatorio han sido también descritos en la NH, como la presencia de eosinofilia, con cifras superiores al 1% ¹³ ¹⁰⁹. Este hallazgo sería común a entidades como la FPI y la neumonitis por fármacos. En cualquier caso, la presencia de una eosinofilia en el LBA

con cifras de eosinófilos superiores al 25% será altamente sugestiva de neumonía eosinófila ¹³
^{103 110 111}. La presencia de mastocitos en LBA ha sido también descrita en la NH, FPI y
sarcoidosis, ¹¹², relacionándose según algunos trabajos con la extensión del proceso fibrótico
así como con la velocidad de progresión en la FPI ^{113 114}. La presencia de células plasmáticas,
acompañadas de macrófagos espumosos (foamy) y un recuento linfocitario elevado, es
altamente sugestivo de NH especialmente en la fase aguda de la enfermedad ¹¹⁵; si bien no es
un hallazgo específico, dado que también ha sido descrita su presencia en las formas
pulmonares secundarias a la toxicidad por fármacos ^{116 117}.

Finalmente, trabajos recientes, plantean la determinación de biomarcadores en el LBA, tales
como KL-6, SP-D, YKL-40, y citoquinas proinflamatorias (CCL17, CCL18, VEGF, IL-8, ENA-78)
como determinantes moleculares de la presencia de daño alveolar, inflamación y angiogénesis.
La determinación de biomarcadores en el LBA en pacientes con NH podría tener implicaciones
en el diagnóstico y en el pronóstico de la enfermedad ^{118 119 120}.

BIOPSIA TRANSBRONQUIAL, CRIOBIOPSIA Y BIOPSIA PULMONAR QUIRÚRGICA

La utilidad de la BTB en el diagnóstico de la EPI se centra especialmente en enfermedades
granulomatosas tales como NH y sarcoidosis, así como en la linfangitis carcinomatosa, daño
alveolar difuso, proteinosis alveolar y neumonía eosinófila, debido a que en otras entidades su
rentabilidad para el diagnóstico es baja ²⁶. La baja efectividad de la técnica en la enfermedad
intersticial está relacionada con la naturaleza irregular y heterogénea de la afectación pulmonar
así como por el pequeño tamaño de la muestra histológica. Además, la propia técnica de la
BTB en la que la muestra de tejido es extraída a través de fórceps, condiciona que la
preservación de la estructura del tejido pulmonar se vea afectada. De acuerdo con algunos
estudios, el rendimiento diagnóstico de esta técnica en la EPI es del 30% ^{121 122}.

En los últimos años, la biopsia de pulmón utilizando criosondas se ha convertido en una técnica
consolidada y fiable que muestra un alto rendimiento diagnóstico en las EPI ¹⁴. En 2009, Babiak

et al ¹²³ describieron la utilidad potencial de la criobiopsia en la enfermedad intersticial, encontrando que la información proporcionada por las muestras histológicas obtenidas a través de criosonda proporcionaba un diagnóstico definitivo en un número significativo de casos. Después de la introducción de esta técnica en la enfermedad intersticial, varios grupos han investigado su utilidad, ¹²⁴ considerándose hoy en día una alternativa viable a la BTB, debido fundamentalmente a que proporciona una muestra histológica de mayor tamaño, y con mayor preservación de la estructura del parénquima, lo que condiciona un rendimiento diagnóstico superior, sin un aumento en la incidencia de complicaciones ^{125 126 127 128}. Algunos autores, han demostrado además que la criobiopsia es menos costosa que la BPQ sugiriendo su inclusión en el algoritmo diagnóstico de EPI previo al uso de BPQ ¹²⁹. La utilización de la BPQ se reserva para aquellos casos en los que no es posible determinar un diagnóstico tras la realización de los estudios previamente descritos, y siempre y cuando esta técnica invasiva no esté contraindicada ^{2 14 26}. La BPQ es un procedimiento invasivo, que según datos de un metanálisis reciente ¹³⁰, comporta una tasa de mortalidad postoperatoria de hasta un 3,6%. Su rendimiento diagnóstico no parece estar influenciado por la técnica utilizada (video-asistida vs. biopsia pulmonar abierta) ¹³¹.

El diagnóstico histopatológico de la NH no es patognomónico y se basa en la presencia de la tríada de granulomas no necrotizantes, fibrosis intersticial con infiltrado mononuclear, y bronquiolitis obliterante en las muestras obtenidas a través de BTB/criobiopsia y/o BPQ ¹³². Desde el punto de vista histológico, las NH se caracterizan por la presencia de un infiltrado mononuclear, difuso, de predominio neutrofílico en fases iniciales y hasta las primeras 48 horas post-exposición, para tornarse posteriormente de tipo linfocitario ¹³³. Esta infiltración afecta al intersticio, paredes alveolares y bronquiolo, cursando inicialmente como una afectación alveolar. El hallazgo de granulomas no epitelioides es característica, aunque no frecuente, pudiendo a desaparecer tras el cese de la exposición. Progresivamente, con el tiempo, se puede producir una instauración de fibrosis colágena que afecta al espacio alveolar y al intersticio pulmonar. La obliteración de las paredes de los bronquiolos más terminales, es igualmente característica. La fibrosis pulmonar, la fase más avanzada de NH crónica, puede imitar las características histológicas de la NIU, siendo indistinguibles desde el punto de vista

anatomopatológico ¹. Como describe Katzenstein et al ¹³⁴, la principal diferencia entre FPI y NH fibrótica observada en la autopsia es que la presencia de panal predomina en los lóbulos superiores en casi menos de la mitad de los pacientes con NH. La presentación en forma de NINE, neumonía organizada, o fibrosis centrada en vía aérea, también son posibles ² y están aceptados como posibles formas histológicas de NH.

La diferenciación del patrón histológico, puede tener implicaciones no solo diagnosticas, sino también en relación al pronóstico. Wang et al. ¹³⁵ han demostrado que la presencia de un patrón de NINE celular, o un patrón de inflamación peribronquiolar con granulomas mal formados, en el estudio histopatológico, se asocia a una mayor supervivencia. En efecto, los autores comprobaron que la presencia de un patrón de NIU, NINE fibrótica o fibrosis bronquilocéntrica en las muestras de biopsia pulmonar, así como la presencia de focos de proliferación fibroblástica y/o fibrosis colágena densa, se correlaciona con una mayor progresión de la enfermedad con una mayor tasa de mortalidad y/o trasplante pulmonar en este subgrupo de pacientes ¹³⁵.

Figure 8. NH-Subaguda: Infiltrado inflamatorio crónico peribronquiolar con una celula gigante intersticial.

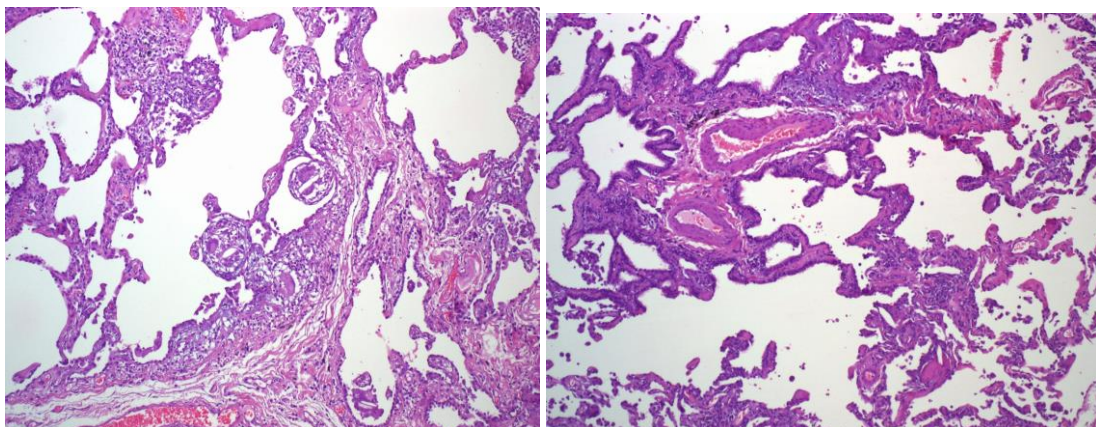


Figura 9. Infiltrado inflamatorio crónico intersticial con un granuloma mal formado y metaplasia peribronquiolar.

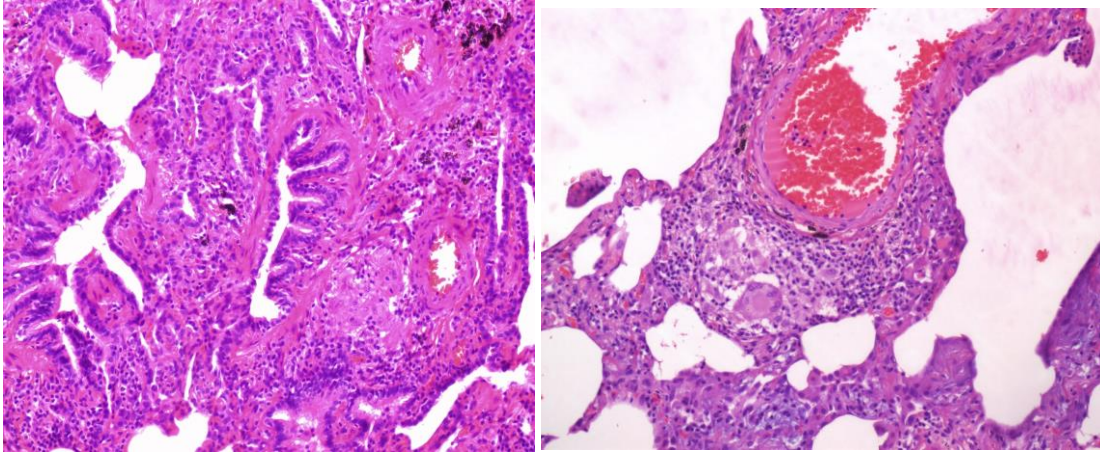
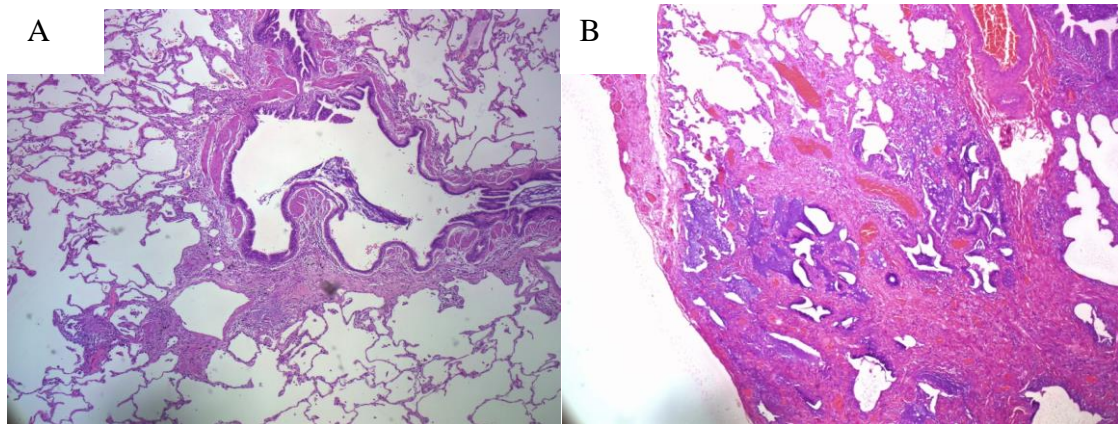


Figura 10. NH Crónica: A: Fibrosis centrada en vía aérea; granuloma no necrotizante. B: Fibrosis avanzada con micropanal.



PRUEBA DE INHALACIÓN ESPECÍFICA

El diagnóstico de NH según la mayoría de las guías y artículos de revisión debe realizarse a través de criterios clínicos, radiológicos y de laboratorio ^{73 78 136}, si bien, teniendo en cuenta que la NH es una entidad de base inmunológica, el empleo de técnicas como la PIE, actualmente ya bien consolidada tras los estudios que referimos a continuación ^{12 18 21 137 138}, deberían también ser incluidas. Esta técnica es especialmente relevante considerando que la tríada típica de los cambios patológicos observados en las biopsias (infiltrado linfocítico, bronquiolitis y granulomas mal formados) se observa en menos del 30% de los pacientes ⁶⁵. En este

contexto, los hallazgos de la PIE pudieran ser un elemento fundamental en el diagnóstico de NH ¹⁹.

Sin embargo, debido a que la técnica carece de estandarización, tanto en los protocolos de inhalación como en los criterios utilizados para definir una respuesta positiva, así como debido al riesgo, según algunos autores, de reacciones graves, en general se considera que sólo debe ser realizada en pacientes seleccionados, en centros especializados y realizado por personal experto ^{10 78 139}. Existen en la literatura escasos estudios publicados que investiguen la utilidad de la PIE en el diagnóstico de NH. Los trabajos publicados, incluyen muestras de escaso número de pacientes, y se centran prioritariamente en antígenos aviares, difiriendo en el método de inhalación, dosis utilizada y criterios de positividad de la misma ^{12 18 137 138}. A pesar de esta heterogeneidad, las sensibilidades y especificidades reportadas son bastante satisfactorias lo que sugiere que el PIE podría ser una opción válida para su uso en el diagnóstico de esta enfermedad.

Tabla 3. Utilidad de la prueba de inhalación específica en el diagnóstico de neumonitis por hipersensibilidad. Modificado de Quirce et al. ⁸⁰

	Pacientes	Antígeno	Resultado de la PIE
Hendrick et al. ¹³⁷	29 sospecha de NH 2 controles	Antígeno aviar	15/144 resultados inespecíficos Sensibilidad*: 95% Especificidad*: 85–48%
Ramirez-Venegas et al. ¹⁸	17 NH crónica 17 otras EPI 5 controles	Antígeno aviar	3/39 resultados inespecíficos Especificidad *: 82 – 86% Sensibilidad *: 100–76%
Ohtani et al. ¹³⁸	11 NH crónica	Antígeno aviar	0/11 resultados inespecíficos

Morell et al. ¹²	59 NH 30 sanos cuidadores de palomas 20 otras EPI	Antígeno aviar	5/59 resultados inespecíficos Especificidad: 100% Sensibilidad: 92%
Muñoz et al. ²⁰	88 NH 25 otras EPI	Antígeno aviar/fúngico/químico Antígeno Aviar/fúngico	Especificidad: 84% Sensibilidad: 73% Especificidad: 86% Sensibilidad: 85%
Ishizuka et al. ²¹	28 NH 19 otras EPI	Antígeno aviar	7/47 resultados inespecíficos Sensibilidad: 79% Especificidad: 95%

* De acuerdo con diferentes respuestas obtenidas en la prueba

En un estudio reciente de Muñoz et al ²⁰, la PIE mostró un buen rendimiento diagnóstico en 113 pacientes con sospecha de NH. La sensibilidad y la especificidad totales fueron de 73% y 84%, respectivamente, cuando se analizaron conjuntamente las pruebas contra todos los agentes causales y de 85 y 86% respectivamente cuando se evaluaron los resultados sólo en pacientes expuestos a antígenos aviáres o fúngicos. El método de exposición consistió en la administración de un extracto del agente causal sospechoso utilizando un nebulizador. Se pidió a los pacientes que inhalaran 2 mL del antígeno sospechoso a una dilución de 1/100 (0.01 mg / mL). La capacidad vital forzada (CVF), el volumen espiratorio forzado en 1 segundo, la capacidad de difusión del monóxido de carbono (DLco) y la temperatura del paciente se registraron en la línea de base, 20 minutos después de la inhalación, cada hora después durante las siguientes 8 horas y a las 24 horas. El recuento de células sanguíneas, la radiografía de tórax y la medición de la saturación de O₂ se realizaron antes y 8 horas después de la inhalación. En todos los casos, se realizó una PIE con una solución de placebo (solución salina) un día antes de la prueba con el antígeno sospechoso. La prueba se consideró positiva cuando se obtuvo cualquiera de las siguientes respuestas ¹²: (1) disminución de la FVC > 15% o disminución de DLco > 20% en comparación con los valores basales; (2) 10 a 15% de disminución de la FVC más al menos uno de los siguientes criterios con respecto al estado

clínico y los valores analíticos basales: (a) aumento de glóbulos blancos en sangre periférica del 20%, (b) disminución un 3% de la saturación de O₂ (C) cambios radiológicos significativos, ¹⁸ (d) aumento de la temperatura corporal de más de 0,5 ° C, o (e) síntomas clínicos evidentes (por ejemplo, tos, disnea); (3) disminución de la FVC <10%, pero con evidencia de tres o más de los criterios clínicos o analíticos previamente mencionados. Cuando la prueba resultó negativa, la inhalación de una nueva dilución de antígeno de 1/10 (0,1 mg / ml) se realizó al día siguiente siguiendo el mismo procedimiento. Utilizando este método, sólo nueve pacientes (8%) experimentaron reacciones relacionadas con la PIE, que fueron transitorias, y sólo tres pacientes requirieron la administración de corticosteroides orales ²⁰. Los resultados de este estudio parecen demostrar que el PIE no debería considerarse una prueba restringida a ciertos pacientes y sólo en centros con especial interés en esta enfermedad.

Sin embargo, pese a su alta rentabilidad diagnóstica, no existen unos criterios estandarizados para la interpretación de la PIE. En la Tabla 4 se describen los criterios de positividad de la PIE sugeridos por diferentes autores.

Tabla 4. Criterios para la interpretación de la prueba de inhalación específica. Modificado de Quirce et al. ⁸⁰

Referencias	Criterios de positividad
Hendrick et al. ¹³⁷	<ol style="list-style-type: none"> 1. Aumento de la T^a corporal > 37.2°C 2. Incremento de neutrófilos en sangre periférica > 2500/mm³ 3. Descenso de FVC > 15% 4. Descenso en DLco > 15%
Ramirez Venegas et al. ¹⁸	<p>Al menos uno de los siguientes criterios:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Descenso en FVC >16% 2. Descenso en PaO₂ >3mm Hg 3. Descenso en SatO₂ >3% 4. Aumento de la T^a corporal > 0,5 °C
Othani et al. ¹³⁸	<p>Tres o más de los siguientes criterios:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Incremento de las alteraciones radiológicas 2. Incremento en P(A-a) O₂ >10mm Hg y/o descenso en DLco >20% 3. Incremento en leucocitos en sangre

	<p>periférica >30%</p> <p>4. Incremento en PCR >1.0 mg/dl</p> <p>5. Incremento en T^a corporal > 1.0 °C y/o síntomas sistémicos</p> <p>6. Síntomas respiratorios</p>
Morell et al. ¹²	<p>1. Descenso en FVC > 15% o descenso en DLCO >20%</p> <p>2. Descenso en FVC 15-10% y al menos uno de los siguientes criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Incremento en leucocitos en sangre periférica ≥ 20% - Descenso en SatO₂ > 3% - Cambios radiológicos significativos - Incremento en T^a corporal > 0,5 °C - Sintomatología (tos, disnea) <p>3. Descenso en FVC <10% con ≥ 3 de los anteriores criterios</p>
Ishizuka et al. ²¹	<p>Dos o mas de los siguientes criterios:</p> <p>1. Incremento de las alteraciones radiológicas</p> <p>2. Incremento en P(A-a) O₂ >10mm Hg y/o descenso en DLco >20%</p> <p>3. Descenso en FVC >15%</p> <p>4. Incremento en leucocitos en sangre periférica >30%</p> <p>5. Incremento en PCR >1.0 mg/dl</p> <p>6. Incremento en T^a corporal > 1.0 °C y/o síntomas sistémicos</p> <p>7. Desarrollo de síntomas respiratorios (tos y disnea)</p>

La principal limitación para realizar esta técnica es la disponibilidad de ella en los distintos centros hospitalarios, la necesidad de ingreso hospitalario del paciente y el poder disponer de un laboratorio que facilite los extractos antigénicos a emplear ¹⁹ En todo caso la prueba no se debe realizar si la FVC y/o la DLCO son inferiores al 50% del valor teórico. ²⁰.

ESPUTO INDUCIDO. AIRE EXHALADO CONDENSADO. FENO.

El análisis del esputo inducido (EI) como técnica de estudio de la inflamación pulmonar, ha demostrado ser muy útil para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con asma y EPOC ¹⁴⁰ ¹⁴¹. Su utilidad es más dudosa en pacientes con patología intersticial pulmonar ¹⁴². En este sentido, en pacientes con sarcoidosis, se ha demostrado un aumento del número de células totales con un aumento del porcentaje de linfocitos en el recuento celular diferencial ¹⁴³. En pacientes con esclerodermia sistémica y afectación pulmonar se ha observado un porcentaje mayor de neutrófilos, con descenso de macrófagos, además de un incremento en el número total de células respecto a sujetos sanos ¹⁴⁴ ¹⁴⁵. Finalmente en pacientes con NH los tres estudios realizados hasta la actualidad en los que se evalúa la validez del EI en el manejo diagnóstico de estos pacientes, han demostrado, al igual que en la sarcoidosis, un incremento en el número de células totales con incremento del número de linfocitos comparado con sujetos sanos ¹⁴⁶ ¹⁴⁷. En este sentido, dada la escasa literatura de la que disponemos, otro de los objetivos de la presente tesis ha sido evaluar la utilidad del estudio del perfil inflamatorio del EI tras la PIE en pacientes con NH, e identificar posibles diferencias en función del agente causal.

Otras técnicas no invasivas para el estudio de la inflamación de la vía aérea también han sido evaluadas. En efecto, el análisis del pH del aire exhalado condensado (AEC) ¹⁴⁸ se ha demostrado como herramienta útil en la evaluación de la inflamación de la vía aérea, al haberse referido su utilidad en el manejo de los pacientes con asma de difícil control, en los que los valores del pH del AEC están disminuidos ¹⁴⁹, al igual que en pacientes con bronquiectasias (BQ), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y/o fibrosis quística (FQ) en el que los valores de pH del AEC descienden en el contexto de infecciones ¹⁵⁰. En cambio, en relación a su utilidad en las enfermedades pulmonares intersticiales, la experiencia es menor. En este sentido, recientemente, nuestro grupo, pudo evaluar la utilidad del estudio del pH del AEC en pacientes con NH en relación a la PIE, demostrando un descenso en los niveles de pH post PIE en pacientes expuestos a antígenos de origen fúngico. Por contra, esta variación en los niveles de pH no se pudo demostrar en pacientes con PCA. En base a estos

hallazgos, los autores postulan, que la diferencia observada en los resultados en relación al agente causal, podría sugerir un mecanismo fisiopatológico diferencial en relación en NH en relación al agente causal ¹⁵¹.

Finalmente, el estudio de la fracción exhalada de óxido nítrico (FENO), que traduce la presencia de inflamación eosinofílica en la vía aérea, se ha mostrado útil en el estudio de enfermedades como la EPOC, BQ ¹⁵² ¹⁵³ y disquinesia ciliar primaria, en las que los valores están disminuidos, y desde luego en el asma, donde los valores de FENO están incrementados ¹⁵⁴. En relación a la EPI, tan solo dos trabajos han evaluado su utilidad en el estudio de pacientes con NH, obteniendo resultados discordantes. En efecto, Guilleminault et al. analizaron una cohorte de pacientes con NH observando que los niveles de óxido nítrico (NO) en esta población estaban incrementados respecto al resto de EPI ¹⁵⁵. Recientemente nuestro grupo, evaluó la utilidad del estudio del FENO en pacientes con NH en el contexto de la PIE, no objetivando diferencias en los niveles basales de FENO en pacientes con NH respecto a aquellos que presentaban un diagnóstico alternativo, ni tampoco en relación a la PIE en aquellos pacientes en los que ésta resulto positiva ¹⁵⁶.

TRATAMIENTO

El tratamiento de las NH se basa fundamentalmente en la evitación de la fuente antigénica, la cual, si bien se considera un tratamiento efectivo, en ocasiones se ve dificultado, por imposibilidad en la detección de la causa, o bien en los casos de exposición laboral, por negación del trabajador a abandonar el puesto de trabajo y/o por la dificultad para la reubicación del paciente en el mismo lugar de trabajo. Sistemas de protección, ventilación adecuada, limpieza, son métodos que pueden minimizar la exposición, y por tanto, el daño alveolar.

Desde el punto de vista médico, los fármacos empleados en el tratamiento de la fase aguda y subaguda son los corticosteroides, en dosis variables de 20mg a 30mg al día de prednisona. En la forma crónica, el empleo de corticosteroides de forma mantenida en muchos casos

condiciona que el empeoramiento funcional sea más lento, habiéndose incluso publicado que el empleo de dosis reducidas de corticoides parece tener una efectividad similar a la evitación antigénica ²⁷. El empleo de otros fármacos, tales como agentes citotóxicos como micofenolato mofetilo (MMF) o azatioprina (AZA) es habitual en algunos centros, si bien no existen estudios randomizados en este sentido ^{157 158 159 160}. En un estudio retrospectivo, pacientes con NH en fase de fibrosis pulmonar fueron tratados con MMF o AZA, experimentando ausencia de cambios en la FVC pero con una mejoría significativa en la DLCO después de un año de tratamiento ¹⁶¹. Series con un pequeño número de pacientes han mostrado también utilidad en el empleo del rituximab en la NH refractaria, si bien estos resultados no han podido ser reproducidos ¹⁶². Actualmente se están llevando a cabo estudios randomizados que evalúan la potencial eficacia del tratamiento con fármacos antifibróticos (nintedanib) en las formas crónicas de NH con mala respuesta al tratamiento establecido. Finalmente en aquellos casos en los que existe una progresión de la enfermedad a pesar del tratamiento y evitación antigénica, debe plantearse el trasplante de pulmón como opción terapéutica de forma precoz ².

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPOTESIS

1. Las guías actuales de diagnóstico de FPI (ATS 2011) ⁹⁸ podrían no tener la suficiente sensibilidad para el diagnóstico diferencial con NH crónica.
2. Una exposición antigénica de pequeña cantidad pero persistente en el tiempo, frente a antígenos ocultos, puede provocar NH crónica asintomática, que puede pasar desapercibida hasta su progresión a un estadio avanzado de fibrosis pulmonar con características de NIU.
3. La falta de reconocimiento de algunas exposiciones ambientales poco frecuentes, como agentes etiológicos de la NH, como puede ocurrir con la exposición a plumas ocultas en el ambiente doméstico, podría explicar algunos de los casos de NH crónica sin antígeno conocido reportados en la literatura.
4. El empleo de métodos no invasivos de estudio de la inflamación pulmonar, puede tener utilidad en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con NH.
5. El estudio celular del esputo inducido en el contexto de una prueba de inhalación específica puede tener utilidad en el diagnóstico de positividad o negatividad de la misma.

OBJETIVOS

1. Cuantificar el porcentaje de NH crónica clasificados como FPI siguiendo las guías de diagnóstico actuales ⁹⁸ y el porcentaje de pacientes afectados de NH crónica en los cuales la patología es secundaria a una exposición antigénica oculta.
2. Comparar el perfil inflamatorio después de una prueba de inhalación específica en el esputo inducido en pacientes con NH e identificar las posibles diferencias en función del agente causal.

CAPÍTULO 1

Chronic hypersensitivity pneumonitis in patients diagnosed with idiopathic pulmonary fibrosis: a prospective case-cohort study.

Morell F, Villar A, Montero MA, Muñoz X, Colby TV, Pivvath S, Cruz MJ, Raghu G.

Lancet Respir Med. 2013 Nov; 1(9):685-94

CAPÍTULO 2

Bronchial inflammation in hypersensitivity pneumonitis after antigen-specific inhalation challenge.

Villar A, Muñoz X, Sanchez-Vidaurre S, Gómez-Ollés S, Morell F, Cruz MJ.

Respirology. 2014 Aug; 19(6):891-9

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

En la presente tesis doctoral se profundiza en diferentes aspectos relacionados con el estudio etiológico y manejo diagnóstico de la NH crónica. Los resultados del **primer capítulo** confirman que hasta casi la mitad de los pacientes que cumplirían criterios diagnósticos de FPI siguiendo las actuales guías internacionales (ATS 2011) 98, tienen un diagnóstico de NH. El **segundo capítulo** demuestra un patrón neutrofílico basal en las NH en el EI, si bien tras la exposición al antígeno causal, se evidencia una inflamación neutrofílica con un predominio de citoquinas proinflamatorias en las NH por hongos, y una inflamación eosinofílica con predominio de citoquinas Th2 en las NH por aves.

La diferenciación clínica entre FPI y NH crónica puede ser difícil, y ambas entidades pueden presentar características clínicas, radiológicas y patológicas similares ^{8 163}. En nuestra opinión, el diagnóstico diferencial entre ambas entidades debería englobar los siguientes aspectos: En primer lugar, la realización de una historia clínica exhaustiva acerca de exposiciones antigénicas. En segundo lugar, la detección de IgG específicas frente a antígenos aviáres y fúngicos en suero. En tercer lugar, la realización de una PIE frente al material sospechoso y/o frente a los hongos aislados en el mismo a través del cultivo microbiológico. En cuarto lugar, la determinación de linfocitosis en las muestras de LBA y estudio anatomopatológico a través de criobiopsia. Por último, en aquellos casos en los que con las pruebas expuestas con anterioridad, no se hubiese alcanzado un diagnóstico concluyente, la realización de una BPQ, con evaluación de la muestra a través de discusión multidisciplinar entre patólogos y expertos clínicos en centros de referencia ²². En base a la realización de las técnicas diagnósticas mencionadas, en el **primer capítulo** de la presente tesis, se demuestra que un porcentaje no despreciable de NH crónica podría estar erróneamente diagnosticado como FPI. Asimismo, la determinación de IgG específicas en suero, evidenció que hasta dos tercios de los pacientes estarían además sensibilizados a antígenos ambientales causantes de NH, siendo la exposición a plumas en el ambiente doméstico la causa de la enfermedad en el 63% de los casos. Estos hallazgos, apoyarían la inclusión de la exposición a antígenos aviáres ocultos en el ambiente doméstico, tales como la exposición a edredón y/o almohadón de plumas, a la lista

de exposiciones potencialmente causales de enfermedad pulmonar intersticial, FPI y NH. Nuestras observaciones enfatizan además en la necesidad de la realización de una historia clínica exhaustiva, tanto en la visita inicial como en las de seguimiento, prestando especial atención a antecedentes de exposición ambiental a antígenos causales conocidos de NH en formas de exposición sutiles tales como plumas, mohos, (fugas de agua, humedades en las paredes..), bañeras de hidromasaje, sistemas de ventilación, y fuentes de calor.

Un hecho característico en los pacientes con NH crónica que siguiendo las actuales guías de diagnóstico cumplirían criterios de FPI ⁹⁸ , es que en la mayoría de los casos, no presentaron síntomas previos de NH aguda y/o subaguda. Este hallazgo podría ser debido a que los casos de NH crónica que simulan FPI son consecuencia de una exposición antigénica mínima pero persistente y recurrente en el tiempo, que de forma gradual conduce a un cuadro clínico característico de fibrosis pulmonar en estadio avanzado. Estudios previos de Othani et al. ⁷⁰ apoyan esta hipótesis. Efectivamente, dichos estudios describen dos tipos diferenciales de NH: La forma clínica de NH secundaria a exposición a antígeno aviar, característica de los cuidadores de aves (PCA) sometidos a altas concentraciones antigénicas, se caracterizaría por la presencia de síntomas recurrentes de la enfermedad. En esta forma clínica, un pequeño porcentaje de pacientes presentaría acropaquia (7%), mientras que la presencia de fiebre (33%), IgG específicas frente a antígeno aviar (86%) y el porcentaje de linfocitos en las muestras de LBA (70%) sería notorio. Un segundo grupo de pacientes presentaría un tipo mas insidioso de NH, causada por niveles bajos pero persistentes de antígeno. En este grupo de pacientes si bien la presencia de acropaquia sería superior (53%), el porcentaje de IgG específicas frente a antígeno aviar y el porcentaje de linfocitos en las muestras de LBA seria inferior (35% y 23% respectivamente). Este grupo de pacientes se caracterizaría además por la ausencia de fiebre. Estos últimos valores son similares a los obtenidos en nuestros pacientes, en los que el porcentaje de IgG específicas frente a extractos de antígeno aviar y/o fúngico fue del 50% y 70% respectivamente, y la presencia de linfocitosis en el LBA, definida como un recuento de linfocitos superior al 20%, estuvo presente en el 16% de los casos. Al igual que en la serie de Othani et al. ⁷⁰ ninguno de los pacientes presento fiebre, y la acropaquia estaba presente en un 25% de los casos.

Por otra parte, la forma clínica insidiosa de NH descrito por Othani et al. ⁷⁰ se caracteriza además por la presencia de un patrón de NIU en el estudio anatomopatológico. Este patrón, descrito como predominantemente centrilobular y perilobular, con hiperplasia linfoide, áreas de organización intrabronquiolar e inflamación intersticial difusa, es hoy en día reconocido como característico de NH crónica ¹⁶⁴. Estos hallazgos serían concordantes con los descritos en nuestra serie en los pacientes finalmente diagnosticados de NH crónica.

En las guías actuales (ATS 2011) para el diagnóstico de FPI ⁹⁸, se establece la importancia de la exclusión de causas conocidas y factores ambientales potencialmente causales de fibrosis pulmonar, pero no existen cuestionarios validados de cribado. Tampoco se recomienda la determinación de IgG específicas, la realización de LBA para descartar la presencia de linfocitosis, o la práctica de una PIE. Estos procedimientos, siguen siendo considerados hoy en día, métodos de investigación, que precisan ser validados ^{12 19} si bien existen diferentes estudios que han demostrado su utilidad en el diagnóstico de NH ^{18 20}. De hecho, aunque la PIE es una técnica, que tan solo se realiza en centros seleccionados, tiene un valor predictivo positivo del 94% y un valor predictivo negativo de 71% ²⁰. Por tanto, siguiendo las actuales guías ⁹⁸, sin la realización de las anteriores técnicas descritas, y en ausencia de cuestionarios validados para la exclusión de posibles exposiciones a factores ambientales causales de NH crónica, algunos casos con diagnóstico de FPI, podrían ser en realidad la manifestación de un estadio final de NH crónica iniciado y perpetuado por una exposición ambiental sutil pero persistente que podría pasar desapercibida.

A pesar de lo referido anteriormente, este trabajo no está exento de limitaciones. Así, una posible limitación es que se trata de un estudio realizado en un único Centro, que además dispone de reconocida experiencia en la NH crónica; por este motivo, podría existir un sesgo involuntario en la selección de pacientes, por tratarse de un centro de Referencia; en este sentido, más estudios en otros centros se hacen necesarios. Otra posible limitación sería la utilización de técnicas inmunológicas (determinación de IgG específicas y PIE) en el diagnóstico de los pacientes, técnicas que si bien, han demostrado su utilidad en el diagnóstico

de NH ^{18 20} , continúan siendo consideradas como técnicas de investigación, y no validadas en el diagnóstico de NH ^{2 12 19}. Pese a estas limitaciones, y en base a los resultados aportados, consideramos que el aparente incremento en la incidencia de FPI documentada en los últimos años en la población general ¹⁶⁵ podría ser, en parte, debido a un infradiagnóstico de NH crónica secundaria a exposición antigénica oculta.

El **segundo capítulo** de esta tesis, analiza por primera vez el perfil inflamatorio del EI en dos grupos de pacientes con NH secundaria a diferentes antígenos. Los resultados muestran un patrón neutrófilico basal similar en NH secundarias a antígeno aviar o fúngico. Tras la exposición al antígeno casual, los pacientes con NH secundaria a exposición fúngica (NHF) presentaron un aumento en el porcentaje de neutrófilos y citoquinas proinflamatorias, mientras que aquellos con NH secundaria a exposición aviar (NHA) mostraron un incremento en el porcentaje de eosinófilos y citoquinas Th2. Estos resultados conducen a la hipótesis de que diferentes antígenos pueden condicionar el desarrollo de NH por diferentes mecanismos.

La NH se caracteriza por una alveolitis dependiente de células T. Pocos estudios han analizado el tipo de inflamación bronquial o bronquiolar existente. Sobiecka et al. ¹⁴³ describieron un aumento de los neutrófilos y una disminución de los linfocitos en el esputo inducido en relación con el LBA. D'Ippolito et al. ¹⁴⁶ estudiaron nueve pacientes con NH, siete secundarios a *Micropolyspora faeni* y dos secundarios a antígenos aviares, con una presentación subaguda en ocho casos y crónica en uno de ellos. Una marcada disminución de los linfocitos y un aumento de los neutrófilos en el EI en comparación con el LBA fue reportada. En nuestro trabajo, se describió el mismo patrón, aunque el porcentaje de neutrófilos en el EI fue mayor que los valores reportados por D'Ippolito et al. y el porcentaje de linfocitos fue inferior. Esta diferencia, especialmente en referencia al perfil linfocítico, puede deberse al hecho de que el recuento de linfocitos en LBA fue relativamente bajo en nuestros pacientes, con una mediana de 10% en NHA y 17% en NHF, probablemente debido al hecho de que la mayoría de los pacientes incluidos en el presente estudio tenían una forma crónica de NH ¹² .

Paralelamente, como también se ha observado en pacientes con FPI, sarcoidosis y esclerodermia, en el presente trabajo, la inflamación predominante objetivada a nivel bronquial fue neutrofílica. Esto puede deberse a que el EI da evidencia del estado de la vía aérea superior y media, donde existe un predominio neutrofílico, hecho ya reportado en otros trabajos ^{142 166}. Además, en pacientes con NHF, el aumento significativo de IL-8, IL12-p70 e IL-1 β en comparación con NHA podría explicar el mayor aumento de neutrófilos en este subgrupo de pacientes tras la PIE. Por último, otra posibilidad estaría en relación a la respuesta inmune innata, ya que la respuesta mediada por IL-17 es básicamente neutrofílica, y estudios recientes han demostrado un papel esencial de linfocitos CD17 e IL-17 en la inmunopatología de NH ¹⁶⁷.

Otro hallazgo interesante, en concordancia con los hallazgos de Sobiecka et al. ¹⁴³ y de D'Ippolito et al ¹⁴⁶ es la presencia de una leve inflamación eosinofílica en el esputo. Así, los recuentos de eosinófilos y los niveles de IL-4 e IL-5 (citoquinas Th2) aumentaron en pacientes con NHA después de la PIE. En este sentido, como se ha comentado, la respuesta Th2 está implicada en la inmunopatología de NH ^{61 168} y la presencia de inflamación eosinofílica había sido previamente demostrada en otros estudios en muestras de LBA ¹⁰⁹ y biopsias pulmonares en esta entidad ¹⁶⁹.

Al igual que en el anterior estudio, en este trabajo existen algunas limitaciones. Probablemente, la limitación mas importante es la falta de un grupo control de individuos sanos con el fin de determinar si la inhalación de antígenos fúngicos o aviáres causa inflamación bronquial. Ha sido descrito que la inhalación de antígenos durante la PIE puede conducir a un empeoramiento de los síntomas en pacientes con NH, o bien sensibilizar a aquellos pacientes sin esta condición. Este es un riesgo aceptable, teniendo en cuenta el beneficio que proporciona en este grupo de pacientes un diagnóstico correcto ^{12 18 19 138}. En cambio, este hecho, puede no estar justificado en individuos sanos con fines científicos.

Otra limitación es el pequeño número de pacientes que finalmente se incluyeron en el estudio. La razón principal fue la limitación técnica en la obtención de las muestras de EI que tan solo se pudo obtener en el 50% de los pacientes sometidos a PIE. Este rendimiento limitado es

similar al reportado por otros autores en relación a la obtención de muestras de EI en pacientes con EPI ^{143 146 142} .

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Siguiendo las guías actuales (ATS 2011), la neumonitis por hipersensibilidad crónica podría estar erróneamente diagnosticada como fibrosis pulmonar idiopática. La exposición a plumas en el ambiente domestico, puede ser una causa de enfermedad que pase desapercibida.
2. Un interrogatorio detallado acerca de factores ambientales ocultos como posible fuente antigénica en aquellos pacientes afectos de enfermedad pulmonar intersticial es esencial en el diagnostico diferencial de neumonitis por hipersensibilidad crónica.
3. El protocolo diagnóstico para atribuir la etiología de la neumonitis por hipersensibilidad, a la exposición a plumas, debe incluir la determinación de IgG específica, la realización de prueba de inhalación específica, y el cultivo microbiológico de las posibles fuentes de exposición. Estas pruebas diagnósticas pueden ayudar a identificar factores ambientales ocultos como posible etiología en aquellos casos de neumonía intersticial de causa desconocida.
4. La inflamación bronquial está presente en pacientes con neumonitis por hipersensibilidad, como lo demuestra el aumento de neutrófilos y eosinófilos después de la exposición antigénica durante la prueba de inhalación específica.
5. En las neumonitis por hipersensibilidad por hongos, tras la prueba de inhalación específica se evidencia una inflamación neutrofílica con un predominio de citoquinas proinflamatorias, mientras que en las neumonitis por hipersensibilidad por aves la inflamación es eosinofílica con predominio de citoquinas Th2. Estos hechos orientan a posibles mecanismos fisiopatológicos diferentes en función del agente causal.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Selman M. Hypersensitivity pneumonitis: a multifaceted deceiving disorder. *Clinics in chest medicine* 2004;25:531-47, vi.
2. Vasacova M MF, Walsh S, Leslie K, Raghu G. . Hypersensitivity pneumonitis: Perspectives in diagnosis and management. *Am Jour Respir Crit Care* (aceptado para publicación) 2017.
3. Hanak V, Golbin JM, Ryu JH. Causes and presenting features in 85 consecutive patients with hypersensitivity pneumonitis. *Mayo Clinic proceedings* 2007;82:812-6.
4. Fernandez Perez ER, Swigris JJ, Forssen AV, et al. Identifying an inciting antigen is associated with improved survival in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 2013;144:1644-51.
5. Ryerson CJ, Vittinghoff E, Ley B, et al. Predicting survival across chronic interstitial lung disease: the ILD-GAP model. *Chest* 2014;145:723-8.
6. Ohtani Y, Saiki S, Kitaichi M, et al. Chronic bird fancier's lung: histopathological and clinical correlation. An application of the 2002 ATS/ERS consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Thorax* 2005;60:665-71.
7. Trahan S, Hanak V, Ryu JH, Myers JL. Role of surgical lung biopsy in separating chronic hypersensitivity pneumonia from usual interstitial pneumonia/idiopathic pulmonary fibrosis: analysis of 31 biopsies from 15 patients. *Chest* 2008;134:126-32.
8. Corte TJ, Copley SJ, Desai SR, et al. Significance of connective tissue disease features in idiopathic interstitial pneumonia. *The European respiratory journal* 2012;39:661-8.
9. Copley SJ, Wells AU, Sivakumaran P, et al. Asbestosis and idiopathic pulmonary fibrosis: comparison of thin-section CT features. *Radiology* 2003;229:731-6.
10. Spagnolo P, Rossi G, Cavazza A, et al. Hypersensitivity Pneumonitis: A Comprehensive Review. *Journal of investigational allergology & clinical immunology* 2015;25:237-50; quiz follow 50.
11. Ohshimo S, Bonella F, Cui A, et al. Significance of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2009;179:1043-7.

12. Morell F, Roger A, Reyes L, Cruz MJ, Murio C, Munoz X. Bird fancier's lung: a series of 86 patients. *Medicine* 2008;87:110-30.
13. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2012;185:1004-14.
14. Morell F, Villar A, Ojanguren I, Munoz X, Cruz MJ. Hypersensitivity Pneumonitis: Challenges in Diagnosis and Management, Avoiding Surgical Lung Biopsy. *Seminars in respiratory and critical care medicine* 2016;37:395-405.
15. Chiba S, Tsuchiya K, Akashi T, et al. Chronic Hypersensitivity Pneumonitis With a Usual Interstitial Pneumonia-Like Pattern: Correlation Between Histopathologic and Clinical Findings. *Chest* 2016;149:1473-81.
16. Rodrigo MJ, Benavent MI, Cruz MJ, et al. Detection of specific antibodies to pigeon serum and bloom antigens by enzyme linked immunosorbent assay in pigeon breeder's disease. *Occupational and environmental medicine* 2000;57:159-64.
17. Lacasse Y, Selman M, Costabel U, et al. Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2003;168:952-8.
18. Ramirez-Venegas A, Sansores RH, Perez-Padilla R, Carrillo G, Selman M. Utility of a provocation test for diagnosis of chronic pigeon Breeder's disease. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1998;158:862-9.
19. Munoz X, Morell F, Cruz MJ. The use of specific inhalation challenge in hypersensitivity pneumonitis. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 2013;13:151-8.
20. Munoz X, Sanchez-Ortiz M, Torres F, Villar A, Morell F, Cruz MJ. Diagnostic yield of specific inhalation challenge in hypersensitivity pneumonitis. *The European respiratory journal* 2014;44:1658-65.
21. Ishizuka M, Miyazaki Y, Tateishi T, Tsutsui T, Tsuchiya K, Inase N. Validation of inhalation provocation test in chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis and new prediction score. *Annals of the American Thoracic Society* 2015;12:167-73.
22. Morell F. Does Idiopathic Pulmonary Fibrosis Differ from Other Fibrosis? A Proposed Method for Identifying The Causes. *Arch Bronconeumol* 2016;52:459-60.

23. Hyldgaard C, Hilberg O, Muller A, Bendstrup E. A cohort study of interstitial lung diseases in central Denmark. *Respiratory medicine* 2014;108:793-9.
24. Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, Sobonya RE. The epidemiology of interstitial lung diseases. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1994;150:967-72.
25. Soleymani-Dodaran M, West J, Smith C, Hubbard R. Extrinsic allergic alveolitis: incidence and mortality in the general population. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians* 2007;100:233-7.
26. Morell F, Reyes L, Domenech G, De Gracia J, Majo J, Ferrer J. [Diagnoses and diagnostic procedures in 500 consecutive patients with clinical suspicion of interstitial lung disease]. *Arch Bronconeumol* 2008;44:185-91.
27. Girard M, Lacasse Y, Cormier Y. Hypersensitivity pneumonitis. *Allergy* 2009;64:322-34.
28. J. C. Acute symptoms following work with hay. . *BMJ* 1932;2:1143.
29. Pepys J RR, Citron KM. Precipitins against extracts of hay and moulds in the serum of patients with farmer's lung, aspergillosis, asthma, and sarcoidosis. . *Thorax* 1962:366-74.
30. Lee SA, Liao CH. Size-selective assessment of agricultural workers' personal exposure to airborne fungi and fungal fragments. *The Science of the total environment* 2014;466-467:725-32.
31. Sennekamp J, Joest M, Sander I, Engelhart S, Raulf-Heimsoth M. [Farmer's lung antigens in Germany]. *Pneumologie* 2012;66:297-301.
32. Bellanger AP, Reboux G, Botterel F, et al. New evidence of the involvement of *Lichtheimia corymbifera* in farmer's lung disease. *Medical mycology* 2010;48:981-7.
33. Reboux G, Piarroux R, Mauny F, et al. Role of molds in farmer's lung disease in Eastern France. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2001;163:1534-9.
34. Cano-Jimenez E, Acuna A, Botana MI, et al. Farmer's Lung Disease. A Review. *Arch Bronconeumol* 2016;52:321-8.
35. Reed CE, Barbee RA. Pigeon-Breeders' Lung: A Newly Observed Interstitial Pulmonary Disease. *JAMA* 1965;193:261-5.
36. Duchet-Suchaux L, Drouhet E, Ioannou J, Parent G, Chadourne P. [A case of bird breeder's fancier's lung]. *Journal francais de medecine et chirurgie thoraciques* 1969;23:649-60.

37. Berrill WT, Fitzpatrick PF, Macleod WM, Eade OE, Hyde I, Wright R. Bird-fancier's lung and jejunal villous atrophy. *Lancet* 1975;2:1006-8.
38. Morell F OR, Anto JM, Bernado L, Bofill JM. El pulmon del cuidador de aves. Estudio clinico de 25 casos. *Arch Bronconeumol* 1985; 21:109-17.
39. Grignet JP, Pagnier F, Demarest P, Dinnoo V, De Tavernier H. [Bird breeder's lung. Apropos of 22 cases and immunoelectrophoretic study of a population of 100 pigeon-fanciers presumed to be free from respiratory pathology]. *LARC medical* 1984;4:205-13.
40. Carrillo-Rodriguez JG, Sansores RH, Castrejon A, Perez-Padilla R, Ramirez-Venegas A, Selman M. [Hypersensitivity pneumonitis in Mexico City]. *Salud publica de Mexico* 2000;42:201-7.
41. Christensen LT, Schmidt CD, Robbins L. Pigeon breeders' disease--a prevalence study and review. *Clinical allergy* 1975;5:417-30.
42. Borderias L, Morell F, Vera J, Briz H, Munoz X, Cruz MJ. [Starling-induced hypersensitivity pneumonitis: minimal but persistent antigen exposure]. *Arch Bronconeumol* 2010;46:607-9.
43. Longbottom JL. Pigeon breeders' disease: quantitative immunoelectrophoretic studies of pigeon bloom antigen. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 1989;19:619-24.
44. Baldwin CI, Stevens B, Connors S, et al. Pigeon fanciers' lung: the mucin antigen is present in pigeon droppings and pigeon bloom. *International archives of allergy and immunology* 1998;117:187-93.
45. Morell F VA, Gómez-Olles S, Cruz MJ, Untoria MD, Muñoz X Hypersensitivity pneumonitis by feather duvet: A series of Vall d'Hebron Hospital. *European Respiratory Journal* Sep 2012.
46. Fitting JW, Leuenberger P. [Increase in polynuclear neutrophils of the broncho-alveolar irrigation fluid following exposure in a case of acute alveolitis]. *Revue des maladies respiratoires* 1984;1:301-4.
47. Koschel D, Wittstruck H, Renck T, Muller-Wening D, Hoffken G. Presenting features of feather duvet lung. *International archives of allergy and immunology* 2010;152:264-70.

48. Haitjema T, van Velzen-Blad H, van den Bosch JM. Extrinsic allergic alveolitis caused by goose feathers in a duvet. *Thorax* 1992;47:990-1.
49. Hendrick DJ BP, Beckett WS, Churg A. Occupational disorders of the lung. .
50. Morell F, Roger A, Cruz MJ, Munoz X, Rodrigo MJ. Suberosis: clinical study and new etiologic agents in a series of eight patients. *Chest* 2003;124:1145-52.
51. Cruz MJ, Morell F, Roger A, Munoz X, Rodrigo MJ. [Hypersensitivity pneumonitis in construction plasterers (espartosis): study of 20 patients]. *Medicina clinica* 2003;120:578-83.
52. Villar A, Munoz X, Cruz MJ, Morell F. [Hypersensitivity pneumonitis caused by Mucor species in a cork worker]. *Arch Bronconeumol* 2009;45:405-7.
53. Moore VL, Fink JN, Barboriak JJ, Ruff LL, Schlueter DP. Immunologic events in pigeon breeders' disease. *The Journal of allergy and clinical immunology* 1974;53:319-28.
54. Morell F, Jeanneret A, Aiache JM, Molina C. Leukocyte migration inhibition in farmer's lung. *The Journal of allergy and clinical immunology* 1982;69:405-9.
55. Aune TM, Collins PL, Chang S. Epigenetics and T helper 1 differentiation. *Immunology* 2009;126:299-305.
56. Park Y, Oh SJ, Chung DH. CD4(+)CD25(+) regulatory T cells attenuate Hypersensitivity Pneumonitis by suppressing IFN-gamma production by CD4(+) and CD8(+) T cells. *Journal of leukocyte biology* 2009;86:1427-37.
57. Girard M, Israel-Assayag E, Cormier Y. Impaired function of regulatory T-cells in hypersensitivity pneumonitis. *The European respiratory journal* 2011;37:632-9.
58. Selman M, Pardo A, Barrera L, et al. Gene expression profiles distinguish idiopathic pulmonary fibrosis from hypersensitivity pneumonitis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2006;173:188-98.
59. Nadel Ma. *Textbook of respiratory medicine*. 5th ed2010.
60. Yoshitomi S, Takahashi Y, Ishizuka M, et al. Three patients manifesting early infantile epileptic spasms associated with 2q24.3 microduplications. *Brain & development* 2015;37:874-9.
61. Barrera L, Mendoza F, Zuniga J, et al. Functional diversity of T-cell subpopulations in subacute and chronic hypersensitivity pneumonitis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2008;177:44-55.

62. Mitaka K, Miyazaki Y, Yasui M, et al. Th2-biased immune responses are important in a murine model of chronic hypersensitivity pneumonitis. *International archives of allergy and immunology* 2011;154:264-74.
63. Garcia de Alba C, Buendia-Roldan I, Salgado A, et al. Fibrocytes contribute to inflammation and fibrosis in chronic hypersensitivity pneumonitis through paracrine effects. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2015;191:427-36.
64. Andersson-Sjoland A, de Alba CG, Nihlberg K, et al. Fibrocytes are a potential source of lung fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis. *The international journal of biochemistry & cell biology* 2008;40:2129-40.
65. Selman M, Pardo A, King TE, Jr. Hypersensitivity pneumonitis: insights in diagnosis and pathobiology. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2012;186:314-24.
66. Hill MR, Briggs L, Montano MM, et al. Promoter variants in tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP-3) protect against susceptibility in pigeon breeders' disease. *Thorax* 2004;59:586-90.
67. Janssen R, Kruit A, Grutters JC, Ruven HJ, van Moorsel CM, van den Bosch JM. TIMP-3 promoter gene polymorphisms in BFL. *Thorax* 2005;60:974.
68. Richerson HB, Bernstein IL, Fink JN, et al. Guidelines for the clinical evaluation of hypersensitivity pneumonitis. Report of the Subcommittee on Hypersensitivity Pneumonitis. *The Journal of allergy and clinical immunology* 1989;84:839-44.
69. Elicker BM, Jones KD, Henry TS, Collard HR. Multidisciplinary Approach to Hypersensitivity Pneumonitis. *Journal of thoracic imaging* 2016;31:92-103.
70. Ohtani Y, Saiki S, Sumi Y, et al. Clinical features of recurrent and insidious chronic bird fancier's lung. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 2003;90:604-10.
71. Sansores R, Salas J, Chapela R, Barquin N, Selman M. Clubbing in hypersensitivity pneumonitis. Its prevalence and possible prognostic role. *Archives of internal medicine* 1990;150:1849-51.
72. Lacasse Y, Selman M, Costabel U, et al. Classification of hypersensitivity pneumonitis: a hypothesis. *International archives of allergy and immunology* 2009;149:161-6.

73. Schuyler M, Cormier Y. The diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 1997;111:534-6.
74. Johannson KA, Elicker BM, Vittinghoff E, et al. A diagnostic model for chronic hypersensitivity pneumonitis. *Thorax* 2016;71:951-4.
75. Reboux G, Dalphin JC. [Hypersensitivity pneumonitis: a technical note on precipitins]. *Revue des maladies respiratoires* 2003;20:140-3.
76. Reboux G, Piarroux R, Roussel S, Millon L, Bardonnnet K, Dalphin JC. Assessment of four serological techniques in the immunological diagnosis of farmers' lung disease. *Journal of medical microbiology* 2007;56:1317-21.
77. Cormier Y, Belanger J. The fluctuant nature of precipitating antibodies in dairy farmers. *Thorax* 1989;44:469-73.
78. Costabel U, Bonella F, Guzman J. Chronic hypersensitivity pneumonitis. *Clinics in chest medicine* 2012;33:151-63.
79. Reynaud C, Slosman DO, Polla BS. Precipitins in bird breeder's disease: how useful are they? *The European respiratory journal* 1990;3:1155-61.
80. Quirce S, Vandenplas O, Campo P, et al. Occupational hypersensitivity pneumonitis: an EAACI position paper. *Allergy* 2016;71:765-79.
81. McSharry C, Dye GM, Ismail T, Anderson K, Spiers EM, Boyd G. Quantifying serum antibody in bird fanciers' hypersensitivity pneumonitis. *BMC pulmonary medicine* 2006;6:16.
82. Braun SR, doPico GA, Tsiatis A, Horvath E, Dickie HA, Rankin J. Farmer's lung disease: long-term clinical and physiologic outcome. *The American review of respiratory disease* 1979;119:185-91.
83. Cullinan. CDP. Intertstitial lung diseases.
84. Morell F, Orriols R, Molina C. Usefulness of skin test in Farmer's lung. *Chest* 1985;87:202-5.
85. Morell F, Curull V, Orriols R, De Gracia J. Skin tests in bird breeder's disease. *Thorax* 1986;41:538-41.
86. Morell F OR, Anto J, Roig J, Sanjuas C, Morera J. . El test de inhibicion de la migracion de los leucocitos en el pulmon del cuidador de aves. . *Allergol Immunopathol* 1980;Supplementum VII::115-7.

87. Hisauchi-Kojima K, Sumi Y, Miyashita Y, et al. Purification of the antigenic components of pigeon dropping extract, the responsible agent for cellular immunity in pigeon breeder's disease. *The Journal of allergy and clinical immunology* 1999;103:1158-65.
88. Selman M, Vargas MH. Airway involvement in hypersensitivity pneumonitis. *Current opinion in pulmonary medicine* 1998;4:9-15.
89. Bourke S, Anderson K, Lynch P, et al. Chronic simple bronchitis in pigeon fanciers. Relationship of cough with expectoration to avian exposure and pigeon breeders' disease. *Chest* 1989;95:598-601.
90. Erkinjuntti-Pekkanen R, Kokkarinen JI, Tukiainen HO, Pekkanen J, Husman K, Terho EO. Long-term outcome of pulmonary function in farmer's lung: a 14 year follow-up with matched controls. *The European respiratory journal* 1997;10:2046-50.
91. Dalphin JC, Pernet D, Dubiez A, Debieuvre D, Allemand H, Depierre A. Etiologic factors of chronic bronchitis in dairy farmers. Case control study in the Doubs region of France. *Chest* 1993;103:417-21.
92. Lalancette M, Carrier G, Laviolette M, et al. Farmer's lung. Long-term outcome and lack of predictive value of bronchoalveolar lavage fibrosing factors. *The American review of respiratory disease* 1993;148:216-21.
93. Erkinjuntti-Pekkanen R, Rytönen H, Kokkarinen JI, Tukiainen HO, Partanen K, Terho EO. Long-term risk of emphysema in patients with farmer's lung and matched control farmers. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1998;158:662-5.
94. Remy-Jardin M, Remy J, Wallaert B, Muller NL. Subacute and chronic bird breeder hypersensitivity pneumonitis: sequential evaluation with CT and correlation with lung function tests and bronchoalveolar lavage. *Radiology* 1993;189:111-8.
95. Lynch DA, Rose CS, Way D, King TE, Jr. Hypersensitivity pneumonitis: sensitivity of high-resolution CT in a population-based study. *AJR American journal of roentgenology* 1992;159:469-72.
96. Glazer CS, Rose CS, Lynch DA. Clinical and radiologic manifestations of hypersensitivity pneumonitis. *Journal of thoracic imaging* 2002;17:261-72.

97. Silva CI, Muller NL, Lynch DA, et al. Chronic hypersensitivity pneumonitis: differentiation from idiopathic pulmonary fibrosis and nonspecific interstitial pneumonia by using thin-section CT. *Radiology* 2008;246:288-97.
98. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2011;183:788-824.
99. Brett NElicker KDJ, Travis S. Henry and Harold R. Collard Multidisciplinary approach to hypersensitivity pneumonitis *Thorac Imaging* 2016;31:92-102.
100. Battista G, Sassi C, Zompatori M, Palmarini D, Canini R. Ground-glass opacity: interpretation of high resolution CT findings. *La Radiologia medica* 2003;106:425-42; quiz 43-4.
101. Cormier Y, Brown M, Worthy S, Racine G, Muller NL. High-resolution computed tomographic characteristics in acute farmer's lung and in its follow-up. *The European respiratory journal* 2000;16:56-60.
102. American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000;161:646-64.
103. Spagnolo P, Luppi F, Rossi G, Richeldi L. To BAL or not to BAL: is this a problem in diagnosing IPF? *American journal of respiratory and critical care medicine* 2009;180:379-80; author reply 80.
104. Costabel U, Guzman J. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Current opinion in pulmonary medicine* 2001;7:255-61.
105. Costabel U ZA, Guzman J. Sensitivity and specificity of BAL findings in sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1992; 9 (Suppl 1): 211–214.
106. Caillaud DM, Vergnon JM, Madroszyk A, et al. Bronchoalveolar lavage in hypersensitivity pneumonitis: a series of 139 patients. *Inflammation & allergy drug targets* 2012;11:15-9.
107. Bradley B, Branley HM, Egan JJ, et al. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society. *Thorax* 2008;63 Suppl 5:v1-58.

108. Agostini C, Trentin L, Facco M, Semenzato G. New aspects of hypersensitivity pneumonitis. *Current opinion in pulmonary medicine* 2004;10:378-82.
109. Semenzato G, Bjermer L, Costabel U, Haslam PL, Olivieri D. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): extrinsic allergic alveolitis. *The European respiratory journal* 1990;3:945-6, 61-9.
110. Plans Bolibar C, Morell Brotad F, Morera Prat J, et al. [Chronic eosinophilic pneumonia: report of eight cases (author's transl)]. *Medicina clinica* 1981;77:8-17.
111. Morell F, Bravo C, Ferrer J, Mayordomo C. [Chronic eosinophilic pneumonia (CEP)]. *Anales de medicina interna* 1992;9 Spec No:98-102.
112. Moises JA, Xaubet A, Agusti C, Picado C, Marin A, Agusti-Vidal A. [Significance of the presence of mastocytes in bronchoalveolar lavage in the diagnostic evaluation of diffuse interstitial lung diseases]. *Medicina clinica* 1989;92:454-6.
113. Pesci A, Bertorelli G, Gabrielli M, Olivieri D. Mast cells in fibrotic lung disorders. *Chest* 1993;103:989-96.
114. Cha SI, Chang CS, Kim EK, et al. Lung mast cell density defines a subpopulation of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Histopathology* 2012;61:98-106.
115. Costabel U, Bross KJ, Ruhle KH, Lohr GW, Matthys H. Ia-like antigens on T-cells and their subpopulations in pulmonary sarcoidosis and in hypersensitivity pneumonitis. Analysis of bronchoalveolar and blood lymphocytes. *The American review of respiratory disease* 1985;131:337-42.
116. Costabel U. The alveolitis of hypersensitivity pneumonitis. *The European respiratory journal* 1988;1:5-9.
117. Drent M, van Velzen-Blad H, Diamant M, Wagenaar SS, Donckerwolck-Bogaert M, van den Bosch JM. Differential diagnostic value of plasma cells in bronchoalveolar lavage fluid. *Chest* 1993;103:1720-4.
118. Okamoto T, Fujii M, Furusawa H, Tsuchiya K, Miyazaki Y, Inase N. The usefulness of KL-6 and SP-D for the diagnosis and management of chronic hypersensitivity pneumonitis. *Respiratory medicine* 2015;109:1576-81.

119. Vasakova M, Sterclova M, Kolesar L, et al. Bronchoalveolar lavage fluid cellular characteristics, functional parameters and cytokine and chemokine levels in interstitial lung diseases. *Scandinavian journal of immunology* 2009;69:268-74.
120. Long X, He X, Ohshimo S, et al. Serum YKL-40 as predictor of outcome in hypersensitivity pneumonitis. *The European respiratory journal* 2017;49.
121. Poletti V, Patelli M, Poggi S, Bertanti T, Spiga L, Ferracini R. Transbronchial lung biopsy and bronchoalveolar lavage in diagnosis of diffuse infiltrative lung diseases. *Respiration; international review of thoracic diseases* 1988;54 Suppl 1:66-72.
122. Casoni GL, Gurioli C, Chhajed PN, et al. The value of transbronchial lung biopsy using jumbo forceps via rigid bronchoscope in diffuse lung disease. *Monaldi archives for chest disease = Archivio Monaldi per le malattie del torace* 2008;69:59-64.
123. Babiak A, Hetzel J, Krishna G, et al. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Respiration; international review of thoracic diseases* 2009;78:203-8.
124. Pajares V, Torrego A, Puzo C, Lerma E, Gil De Bernabe MA, Franquet T. [Transbronchial lung biopsy using cryoprobes]. *Arch Bronconeumol* 2010;46:111-5.
125. Kropski JA, Pritchett JM, Mason WR, et al. Bronchoscopic cryobiopsy for the diagnosis of diffuse parenchymal lung disease. *PloS one* 2013;8:e78674.
126. Pajares V, Puzo C, Castillo D, et al. Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: a randomized trial. *Respirology* 2014;19:900-6.
127. Mikolasch TA, Porter JC. Transbronchial cryobiopsy in the diagnosis of interstitial lung disease: a cool new approach. *Respirology* 2014;19:623-4.
128. Azcuna H PIJ, Aburto M, et al. . Cryobiopsy in the diagnosis of interstitial lung diseases. *Chest* 2014:254A.
129. Hernandez-Gonzalez F, Lucena CM, Ramirez J, et al. Cryobiopsy in the diagnosis of diffuse interstitial lung disease: yield and cost-effectiveness analysis. *Arch Bronconeumol* 2015;51:261-7.
130. Han Q, Luo Q, Xie JX, et al. Diagnostic yield and postoperative mortality associated with surgical lung biopsy for evaluation of interstitial lung diseases: A systematic review and meta-analysis. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2015;149:1394-401 e1.

131. Blackhall V, Asif M, Renieri A, et al. The role of surgical lung biopsy in the management of interstitial lung disease: experience from a single institution in the UK. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery* 2013;17:253-7.
132. Myers JL. Hypersensitivity pneumonia: the role of lung biopsy in diagnosis and management. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2012;25 Suppl 1:S58-67.
133. Takemura T, Akashi T, Ohtani Y, Inase N, Yoshizawa Y. Pathology of hypersensitivity pneumonitis. *Current opinion in pulmonary medicine* 2008;14:440-54.
134. Katzenstein AL, Mukhopadhyay S, Myers JL. Diagnosis of usual interstitial pneumonia and distinction from other fibrosing interstitial lung diseases. *Human pathology* 2008;39:1275-94.
135. Wang P, Jones KD, Urisman A, et al. Pathological Findings and Prognosis in a Large Prospective Cohort of Chronic Hypersensitivity Pneumonitis. *Chest* 2017.
136. Lacasse Y, Girard M, Cormier Y. Recent advances in hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 2012;142:208-17.
137. Hendrick DJ, Marshall R, Faux JA, Krall JM. Positive "alveolar" responses to antigen inhalation provocation tests: their validity and recognition. *Thorax* 1980;35:415-27.
138. Ohtani Y, Kojima K, Sumi Y, et al. Inhalation provocation tests in chronic bird fancier's lung. *Chest* 2000;118:1382-9.
139. Wuyts WA, Cavazza A, Rossi G, Bonella F, Sverzellati N, Spagnolo P. Differential diagnosis of usual interstitial pneumonia: when is it truly idiopathic? *European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society* 2014;23:308-19.
140. Alvarez MJ, Uribe P, Echevoyen A, Almudevar E, Olaguibel JM, Urbiola E. [Eosinophils in induced sputum versus nitric oxide in exhaled air: clinical utility in bronchial asthma]. *Anales del sistema sanitario de Navarra* 2009;32:217-25.
141. Sozanska E, Barczyk A, Biedron-Machura M, Pierzchala W. [Usefulness of induced sputum in the diagnostics of selected chronic inflammatory airway diseases]. *Pneumonologia i alergologia polska* 2009;77:349-56.
142. Fireman E, Lerman Y. Induced sputum in interstitial lung diseases. *Current opinion in pulmonary medicine* 2006;12:318-22.

143. Sobiecka M, Kus J, Demkow U, et al. Induced sputum in patients with interstitial lung disease: a non-invasive surrogate for certain parameters in bronchoalveolar lavage fluid. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society* 2008;59 Suppl 6:645-57.
144. Vatrella A, Bocchino M, Perna F, et al. Induced sputum as a tool for early detection of airway inflammation in connective diseases-related lung involvement. *Respiratory medicine* 2007;101:1383-9.
145. Sanchez-Vidaurre S, Simeon CP, Cruz MJ, et al. Latent pulmonary inflammation in patients with systemic sclerosis. *Arch Bronconeumol* 2012;48:8-13.
146. D'Ippolito R, Chetta A, Foresi A, et al. Induced sputum and bronchoalveolar lavage from patients with hypersensitivity pneumonitis. *Respiratory medicine* 2004;98:977-83.
147. Mroz RM, Chyczewska E, Korniluk M, Stasiak-Barmuta A, Ossolinska M. [Comparison of cellular composition of induced sputum, bronchial washings and bronchoalveolar lavage fluid in sarcoidosis, hypersensitivity pneumonitis and COPD]. *Pneumonologia i alergologia polska* 2002;70:468-77.
148. Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *The European respiratory journal* 2005;26:523-48.
149. Bikov A, Galffy G, Tamasi L, et al. Exhaled breath condensate pH decreases during exercise-induced bronchoconstriction. *Respirology* 2014;19:563-9.
150. Liang Y, Yeligar SM, Brown LA. Exhaled breath condensate: a promising source for biomarkers of lung disease. *TheScientificWorldJournal* 2012;2012:217518.
151. Ojanguren I, Cruz MJ, Villar A, Sanchez-Ortiz M, Morell F, Munoz X. Changes in PH in exhaled breath condensate after specific bronchial challenge test in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis: a prospective study. *BMC pulmonary medicine* 2015;15:109.
152. Kersul AL, Iglesias A, Rios A, et al. Molecular mechanisms of inflammation during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Bronconeumol* 2011;47:176-83.
153. Bazeghi N, Gerds TA, Budtz-Jorgensen E, Hove J, Vestbo J. Exhaled nitric oxide measure using multiple flows in clinically relevant subgroups of COPD. *Respiratory medicine* 2011;105:1338-44.

154. Saito J, Gibeon D, Macedo P, Menzies-Gow A, Bhavsar PK, Chung KF. Domiciliary diurnal variation of exhaled nitric oxide fraction for asthma control. *The European respiratory journal* 2014;43:474-84.
155. Guilleminault L, Saint-Hilaire A, Favelle O, et al. Can exhaled nitric oxide differentiate causes of pulmonary fibrosis? *Respiratory medicine* 2013;107:1789-96.
156. Ojanguren I, Cruz MJ, Villar A, Barrecheguren M, Morell F, Munoz X. Utility of Exhaled Nitric Oxide Fraction for the Diagnosis of Hypersensitivity Pneumonitis. *Lung* 2016;194:75-80.
157. Perez-Padilla R, Salas J, Chapela R, et al. Mortality in Mexican patients with chronic pigeon breeder's lung compared with those with usual interstitial pneumonia. *The American review of respiratory disease* 1993;148:49-53.
158. Vourlekis JS, Schwarz MI, Cherniack RM, et al. The effect of pulmonary fibrosis on survival in patients with hypersensitivity pneumonitis. *The American journal of medicine* 2004;116:662-8.
159. Mooney JJ, Elicker BM, Urbania TH, et al. Radiographic fibrosis score predicts survival in hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 2013;144:586-92.
160. Okamoto T, Miyazaki Y, Ogura T, et al. Nationwide epidemiological survey of chronic hypersensitivity pneumonitis in Japan. *Respiratory investigation* 2013;51:191-9.
161. Morisset J, Johansson KA, Vittinghoff E, et al. Use of Mycophenolate Mofetil or Azathioprine for the Management of Chronic Hypersensitivity Pneumonitis. *Chest* 2017;151:619-25.
162. Keir GJ, Maher TM, Ming D, et al. Rituximab in severe, treatment-refractory interstitial lung disease. *Respirology* 2014;19:353-9.
163. Gaxiola M, Buendia-Roldan I, Mejia M, et al. Morphologic diversity of chronic pigeon breeder's disease: clinical features and survival. *Respiratory medicine* 2011;105:608-14.
164. Churg A, Sin DD, Everett D, Brown K, Cool C. Pathologic patterns and survival in chronic hypersensitivity pneumonitis. *The American journal of surgical pathology* 2009;33:1765-70.
165. Navaratnam V, Fleming KM, West J, et al. The rising incidence of idiopathic pulmonary fibrosis in the U.K. *Thorax* 2011;66:462-7.

166. Damjanov N, Ostojic P, Kaloudi O, et al. Induced sputum in systemic sclerosis interstitial lung disease: comparison to healthy controls and bronchoalveolar lavage. *Respiration; international review of thoracic diseases* 2009;78:56-62.
167. Joshi AD, Fong DJ, Oak SR, et al. Interleukin-17-mediated immunopathogenesis in experimental hypersensitivity pneumonitis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2009;179:705-16.
168. Ye Q, Nakamura S, Sarria R, Costabel U, Guzman J. Interleukin 12, interleukin 18, and tumor necrosis factor alpha release by alveolar macrophages: acute and chronic hypersensitivity pneumonitis. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 2009;102:149-54.
169. Churg A MIN, Flint J, Wright JL. . Chronic hypersensitivity pneumonitis and its differential diagnosis. . *Eur Respir Mon* 2007:189-96.