

Reconocimiento a la trayectoria del Prof. Dr. Juan Miguel Castagnino†

Importancia de los macrófagos cargados con hemosiderina en el diagnóstico de la hemorragia alveolar difusa

► Cintia Lorena Giménez¹, Fernando Guerra^{1,2}, Julia Ariagno¹, Anabela Angeleri¹, Luis Palaoro^{1,3}, Adriana Rocher^{1,3*}

¹ Bioquímico/a, Especialista en Bioquímica Clínica, Área Citología.

² Magíster.

³ Doctor/a en Bioquímica.

^a Laboratorio de Citología, Dpto de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Av Córdoba 2351 1^{er} piso. (1120) Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

* Autora para correspondencia.

Resumen

La hemorragia alveolar difusa (HAD) es un síndrome clínico con una alta mortalidad que compromete la función respiratoria. Su diagnóstico se basa en pruebas clínicas, radiológicas y citológicas. El objetivo del trabajo fue ratificar el valor de referencia de hemosideróforos en lavados broncoalveolares (BAL) (hemosideróforos $\geq 20\%$), correlacionar con la etiología y definir las condiciones preanalíticas para que la reacción de Perls alcance valores elevados de sensibilidad. De 109 muestras de pacientes con sospecha de HAD, se analizaron 90 por cumplir los criterios de inclusión; 36 resultaron positivas para HAD, 3 falsamente negativas y 51 resultaron negativas. La sensibilidad fue de 92% y la especificidad de 100%. La mediana de hemosideróforos para muestras con diagnóstico de HAD fue de 70%. Se agruparon según la etiología: procesos infecciosos puros (PI), enfermedades autoinmunes puras (EA), enfermedades neoplásicas puras (EN), enfermedades autoinmunes más procesos infecciosos (EA+PI), enfermedades neoplásicas más procesos infecciosos (EN+PI), misceláneas (MI). La mediana de hemosideróforos para cada grupo fue: PI (n=7) 50%, EA (n=15) 58%, EN (n=6) 73%, EA+PI (n=5) 80%, EN+PI (n=4) 80%, MI (n=2) 45% ($p=0,57$). El porcentaje de pacientes fallecidos fue de 49% (n=19), con una mediana de hemosideróforos de 70%, en comparación con la de pacientes no fallecidos de 64% ($p=0,25$). Se ratificó el valor de referencia para establecer el diagnóstico de HAD en muestras de BAL obtenidas luego de las 36 h de comenzados los síntomas utilizando la reacción de Perls, la cual demuestra una alta sensibilidad y especificidad para dicho diagnóstico.

Palabras clave: Macrófagos; Hemosiderina; Hemosideróforos; Hemorragia alveolar difusa; Lavado broncoalveolar; Reacción de Perls

Importance of hemosiderin-loaded macrophages in diagnosis of diffuse alveolar hemorrhage

Abstract

Diffuse alveolar hemorrhage (DAH) is a clinical syndrome with high mortality. Its diagnosis is based on clinical, radiological and cytological tests. The objective of this study was to ratify the reference value of hemosiderophages in bronchoalveolar lavages (BAL) (hemosiderophages $\geq 20\%$), to correlate with the etiology and define the pre-analytical conditions for the Perls reaction to

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

reach high sensitivity values. Out of the 109 samples from patients with suspected ADH, 90 were analysed for meeting the inclusion criteria; 36 were positive for HAD, 3 were false negatives, and 51 were negative (sensitivity 92%; specificity 100%). The median number of hemosiderophages for samples with a diagnosis of ADH was 70%; they were grouped according to etiology: pure infectious processes (PI), pure autoimmune diseases (AD), pure neoplastic diseases (ND), autoimmune diseases plus infectious processes (AD + PI), and miscellaneous (MI). The median number of hemosiderophages for each group was: PI (n=7) 50%, AD (n=15) 58%, ND (n=6) 73%, AD + PI (n=5) 80%, ND + PI (n=4) 80%, MI (n=2) 45% (p=0.57). The percentage of deceased patients was 49% (n=19), with a median hemosiderophage of 70%, compared with 64% of non-deceased patients (p=0.25). The reference value to establish the diagnosis of ADH in BAL samples obtained 36 hours after the beginning of symptoms using the Perls reaction was ratified, which shows a high sensitivity and specificity to make the diagnosis of ADH.

Keywords: Macrophages; Hemosiderin; Hemosiderophages; Diffuse alveolar hemorrhage; Bronchoalveolar lavage; Perls' reaction

A importância dos macrófagos carregados com hemosiderina no diagnóstico de hemorragia alveolar difusa

Resumo

A hemorragia alveolar difusa (HAD) é uma síndrome clínica com alta mortalidade que compromete a função respiratória. Seu diagnóstico se baseia em testes clínicos, radiológicos e citológicos. O objetivo do trabalho foi ratificar o valor de referência de hemossideróforos em lavagens broncoalveolares (LBA) (hemossideróforos $\geq 20\%$), relacioná-los com a etiologia e definir as condições pré-analíticas para que a reação de Perls alcance valores elevados de sensibilidade. De 109 amostras de pacientes com suspeita de HAD, 90 foram analisadas para cumprir com os critérios de inclusão; 36 resultaram positivas para HAD, 3 foram falsos negativos e 51 resultaram negativas. A sensibilidade foi de 92% e a especificidade de 100%. A média de hemossideróforos para amostras com diagnóstico de HAD foi de 70%, eles foram agrupados de acordo com a etiologia: processos infecciosos puros (PI), doenças autoimunes puras (DA), doenças neoplásicas puras (DN), doenças autoimunes mais processos infecciosos (DA+PI), doenças neoplásicas mais processos infecciosos (DN+PI), miscelâneas (MI). A média de hemossideróforos para cada grupo foi: PI (n=7) 50%, DA (n=15) 58%, DN (n=6) 73%, DA+PI (n=5) 80%, DN+PI (n=4) 80%, MI (n=2) 45% (p=0,57). A porcentagem de pacientes falecidos foi de 49% (n=19), com uma média de hemossideróforos de 70%, em comparação com 64% de pacientes não falecidos (p=0,25). Foi ratificado o valor de referência para estabelecer o diagnóstico de HAD em amostras LBA obtidas 36 horas após o início dos sintomas através da reação de Perls, que apresenta alta sensibilidade e especificidade para esse diagnóstico.

Palavras-chave: Macrófagos; Hemossiderina; Hemossideróforo; Hemorragia alveolar difusa; Lavagem broncoalveolar; Reação de Perls

Introducción

La hemorragia alveolar difusa (HAD) es un síndrome clínico que debe considerarse como una emergencia médica debido a su alta morbimortalidad; compromete la función respiratoria y en la mayoría de los casos requiere de asistencia respiratoria mecánica, por lo que necesita de un diagnóstico y un tratamiento rápidos (1). El término HAD se refiere a distintas formas de hemorragia que se originan en la microcirculación pulmonar y pueden afectar a múltiples áreas del parénquima pulmonar (2) (3) (4).

Las características clínicas de la HAD incluyen disnea, anemia ferropénica, fiebre, episodios de hemoptisis y estertores crepitantes. A pesar de la actividad intraalveolar activa del sangrado, la hemoptisis no está presente en la totalidad de los pacientes que cursen

con este cuadro clínico (5). El examen físico puede ser bastante inespecífico, la radiografía de tórax revelará infiltrados alveolares irregulares que pueden comenzar en un patrón focal unilateral y volverse más difusos con el tiempo (6) (7).

Existen múltiples condiciones asociadas a esta patología. La mayoría de los casos ocurre en asociación con enfermedades sistémicas autoinmunes, desórdenes del tejido conectivo o enfermedades con anticuerpos anti-membrana basal (2) (8). Aunque predominan los mecanismos inmunológicos y otras condiciones asociadas a HAD incluyen infecciones, agentes tóxicos, reacciones adversas a drogas, estenosis mitral, neoplasias, trastornos de la coagulación y complicaciones relacionadas con trasplantes (patologías sin capilaritis pulmonar). La capilaritis pulmonar se refiere a la inflamación de la microcirculación pulmonar.

La hemosiderosis pulmonar idiopática (HPI) es un diagnóstico de exclusión que se utiliza para describir los casos de HAD en los que no se encuentra ninguna condición asociada.

El diagnóstico de HAD se basa en el reconocimiento de síntomas y signos junto con datos radiológicos, de laboratorio y citológicos.

Luego de un episodio de sangrado, los macrófagos alveolares convierten el hierro de la hemoglobina en hemosiderina en el lapso de 36 a 72 horas y permanecen en los espacios alveolares entre 4 a 8 semanas (9) (10) (11) (12). La presencia de macrófagos cargados con hemosiderina (hemosideróforos) en muestras de lavados broncoalveolares (BAL) puede ser revelada mediante la reacción de Perls y así confirmar el diagnóstico de HAD al obtener un porcentaje de hemosideróforos $\geq 20\%$, valor que se utiliza como criterio diagnóstico (13) (14) (15) (16).

Se realizó el presente trabajo en la población de esta institución con el objetivo de ratificar el valor de referencia de hemosideróforos positivos para establecer el diagnóstico de HAD en muestras de BAL, correlacionar los resultados obtenidos con el diagnóstico etiológico y definir las condiciones preanalíticas necesarias para que la técnica citoquímica de Perls alcance valores elevados de sensibilidad.

Materiales y Métodos

Se analizaron 109 muestras de BAL (material de desarte) de pacientes con sospecha de HAD que ingresaron al departamento de Bioquímica Clínica, Laboratorio de Citología del Hospital de Clínicas "José de San Martín" durante el período comprendido entre abril de 2015 y octubre de 2019. Se incluyeron en el análisis 90 muestras (83%) y 19 (17%) fueron excluidas por no cumplir los criterios de inclusión (historia clínica no disponible, volumen de muestra insuficiente, abundante moco). Como control negativo se incluyeron 20 muestras de BAL sin diagnóstico de HAD.

El estudio citológico de las muestras de BAL incluyó recuento celular total, recuento celular diferencial e investigación de la presencia de macrófagos cargados con hemosiderina mediante la reacción citoquímica de Perls.

Análisis de los lavados broncoalveolares

El recuento celular total se realizó en cámara de Neubauer modelo Boeco (Alemania) por duplicado y se informaron como células totales/ mm^3 . Para determinar el recuento celular diferencial se utilizó una centrífuga modelo Rolco 2036. Las muestras fueron centrifugadas a 1500 r.p.m. por 10 minutos; con el sedimento se realizaron los extendidos por duplicado y luego de dejarse secar a temperatura ambiente se fijaron durante 3 mi-

nutos con metanol (Biopack); posteriormente se tiñeron con solución de Giemsa (Biopack) al 10% por 15 minutos. Se lavaron con abundante agua y se observaron al microscopio óptico (MO) (Olympus CX23) con aumento 100X y 400X, para determinar el porcentaje de cada tipo celular (macrófagos alveolares, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, células cilíndricas).

Búsqueda de macrófagos con hemosiderina

Para la identificación de hemosideróforos se centrifugaron las muestras a 1500 r.p.m. por 10 minutos y se descartaron los sobrenadantes. Se utilizó el sedimento para realizar los extendidos por duplicado; se dejaron secar a temperatura ambiente y fueron fijados durante 30 minutos en alcohol de 96°. Los extendidos se cubrieron con el reactivo de Perls (partes iguales de una solución acuosa de ferrocianuro de potasio al 2% y ácido clorhídrico al 10%) y se incubaron en cámara húmeda por 30 minutos a 37 °C. El hierro férrico intracelular se combinó con el ferrocianuro potásico produciendo un producto azul, ferricianuro férrico. Finalmente, se detuvo la reacción mediante lavados sucesivos con abundante agua y se observaron los extendidos al MO con aumento de 100X y 400X.

La positividad de la reacción se evidenció mediante la presencia de un precipitado de color azul intenso en el interior de los macrófagos alveolares. Estos fueron evaluados utilizando el siguiente *score*: ausencia de color =0, azul débil en una porción del citoplasma =1, azul profundo en una pequeña porción de la célula =2, azul intenso en la mayoría de las áreas del citoplasma =3, azul intenso en la totalidad del citoplasma =4. Solamente el *score* 4 se consideró positivo para realizar el diagnóstico de HAD (Fig. 1) (Fig.2). El punto de corte utilizado para establecer el diagnóstico de HAD fue hemosideróforos $\geq 20\%$ (14).

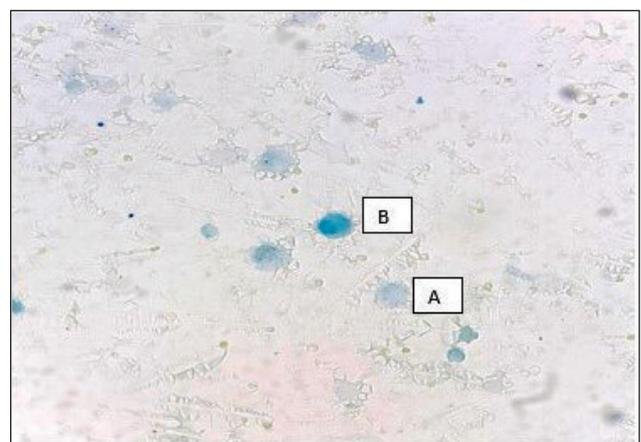


Figura 1. Macrófagos alveolares.

A: Macrófago sin hemosiderina correspondiente a *score*=0. B: Hemosideróforo *score*=1: azul débil en una porción del citoplasma (400X)

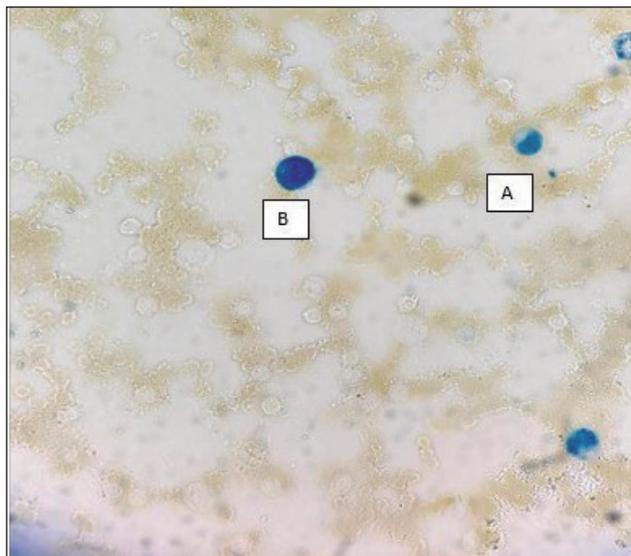


Figura 2.

A: Hemosiderófago *score*=3: azul intenso en la mayoría de las áreas del citoplasma. B: Hemosiderófago *score*=4: azul intenso en la totalidad del citoplasma (400X).

Se determinó el porcentaje de hemosiderofagos para cada muestra de BAL y, por último, se corroboró el diagnóstico definitivo con la historia clínica del paciente.

Análisis estadístico

Se evaluó la sensibilidad y la especificidad mediante curvas ROC (*receiver operating characteristic*), y se determinaron el área bajo la curva y el índice de Youden. Se calculó la estadística descriptiva informándose mediana y rango para cada población. Mediante Anova Kruskal-Wallis se analizó la correlación del porcentaje de hemosiderofagos positivos con la etiología de HAD y con la supervivencia de los pacientes. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el *software* MedCalc versión 19.1.6 (Medcalc Software, Mariakerke, Bélgica). Para todas las pruebas, la significación estadística se estableció en un valor de $p < 0,05$.

Aspectos éticos

Ésta fue una investigación retrospectiva con material de descarté. Los pacientes fueron anonimizados para el uso de los materiales en este estudio. Por lo tanto, no se necesitó consentimiento informado (Ley Nacional de Protección de Datos Personales, N° 25326 - Argentina). Se siguieron los lineamientos de la declaración de Helsinki de 2013.

Resultados

De las 90 muestras representativas de BAL correspondientes a pacientes estudiados por sospecha de HAD,

46 (51%) fueron individuos masculinos, y 44 (49%) femeninos, con una mediana de edad de 55 años (rango 16-88). Del total, 36 muestras (40%) resultaron positivas para diagnóstico de HAD (macrófagos cargados con hemosiderina $\geq 20\%$) y con diagnóstico final confirmado por historia clínica, 3 muestras (3%) resultaron negativas por el análisis citológico del BAL pero con diagnóstico positivo para HAD por historia clínica y 51 muestras (57%) resultaron negativas para HAD (macrófagos cargados con hemosiderina $< 20\%$ y confirmado por historia clínica). Se obtuvo una sensibilidad $S=92\%$ y una especificidad $E=100\%$ para la técnica citoquímica de Perls.

A partir del análisis de la curva ROC se puede inferir que dado el alto valor del índice de Youden (0,94) y el alto valor del AUC (0,995) el *test* diferencia con altísima sensibilidad y especificidad los pacientes sanos de los enfermos (Fig. 3).

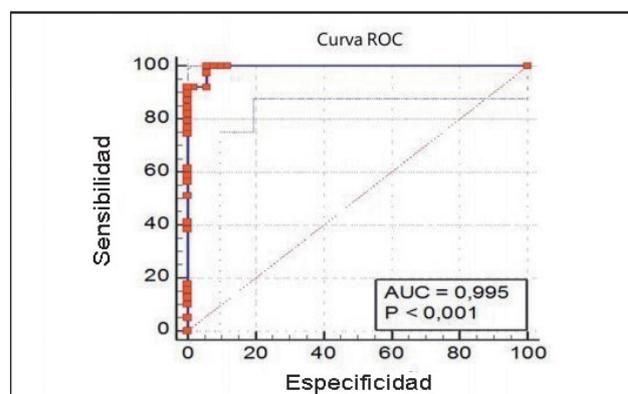


Figura 3. Curva ROC para la reacción de Perls. Sensibilidad=92% y Especificidad=100%.

La mediana de hemosiderofagos en pacientes con diagnóstico confirmado de HAD fue de 70% (rango 7-96). El histograma (Fig. 4) indica la frecuencia con la cual se observan los porcentajes de hemosiderofagos positivos en muestras de BAL.

Se analizaron 20 muestras de pacientes sin diagnóstico de HAD como control negativo y no se observaron hemosiderofagos positivos mediante la reacción de Perls.

Los pacientes con diagnóstico de HAD confirmados por historia clínica fueron agrupados en seis categorías según su etiología: procesos infecciosos puros (PI), enfermedades autoinmunes puras (EA), enfermedades neoplásicas puras (EN), enfermedades autoinmunes más procesos infecciosos (EA+PI), enfermedades neoplásicas más procesos infecciosos (EN + PI), misceláneas (MI) (insuficiencia renal aguda, tromboembolismo de pulmón).

Se obtuvo un valor de mediana de hemosiderofagos para cada grupo etiológico:

PI (n=7) 50% (rango 26-96%), EA (n=15) 58% (rango 7-96%), EN (n=6) 73% (rango 30-75%), EA+PI

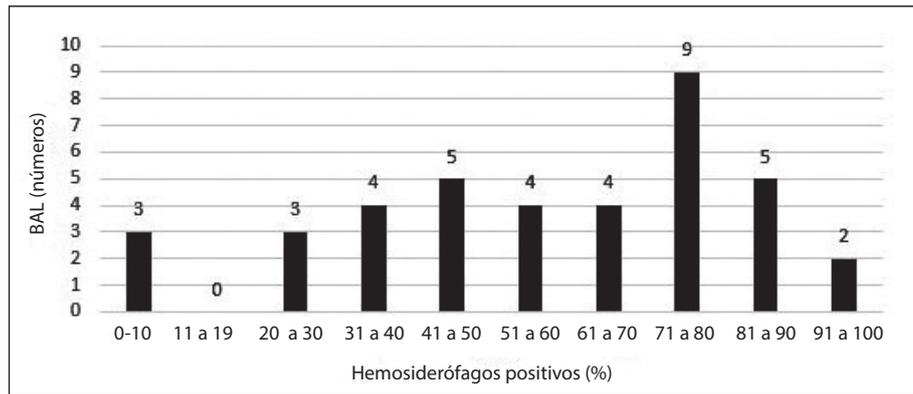


Figura 4. Frecuencia observada de los porcentajes de hemosiderofagos positivos en 39 muestras de lavado broncoalveolar de pacientes con diagnóstico de hemorragia alveolar difusa confirmado por historia clínica.

(n=5) 80% (rango 50-88%), EN+PI (n=4) 80% (rango 60-80%) y MI (n=2) 45% (rango 38-52%) ($p=0,57$). No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos de pacientes, excluyendo del análisis a MI por escaso número de casos (Fig. 5).

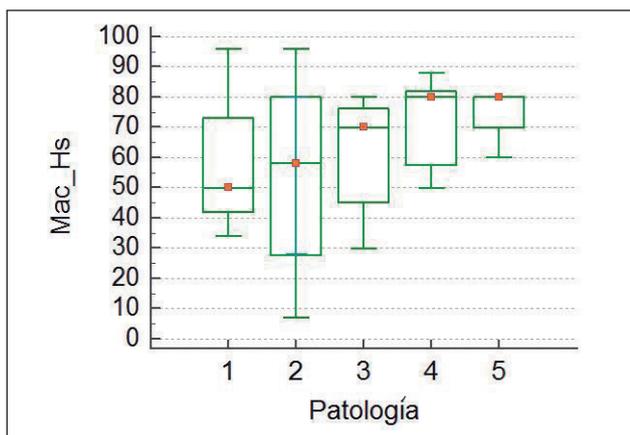


Figura 5. Representación de las medianas de hemosiderofagos para cada grupo etiológico. No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos ($p=0,57$).

Patología: 1: Infecciones puras, 2: Enfermedades autoinmunes, 3: Enfermedades neoplásicas, 4: Enfermedades autoinmunes más infecciones, 5: Enfermedades neoplásicas más infecciones.

El porcentaje de pacientes fallecidos con diagnóstico de HAD fue de 49% (n=19). La supervivencia de los pacientes fallecidos luego de realizado el diagnóstico citológico de HAD fue la siguiente: 12 meses n=1, hasta 6 meses n=8, menores de 15 días n=10. Se obtuvo una mediana de 70% (rango 34-85) de hemosiderofagos positivos en pacientes fallecidos, en comparación con la mediana de los pacientes no fallecidos de 64%, (rango 7-96) ($p=0,25$). No se encontró diferencia significativa entre ambos grupos.

Discusión y Conclusiones

La técnica citoquímica de Perls es utilizada en los laboratorios de citología con el fin de evidenciar la presencia de hemosiderofagos en muestras de BAL, con el objetivo de realizar el diagnóstico de HAD (16) (17). Desde 1970 el BAL es la muestra elegida para establecer el diagnóstico de HAD mediante esta técnica. Lanssence *et al.* establecieron un valor de porcentaje de hemosiderofagos en BAL como criterio de diagnóstico para HAD ($\geq 20\%$) (18). Esta cifra tiene una estrecha relación con el informado por Finley *et al.* (19), Drew *et al.* (20) y Golde *et al.* (21), quienes describieron por primera vez la correlación entre el porcentaje de hemosiderofagos y la HAD en biopsias pulmonares.

Del estudio estadístico se obtuvo una sensibilidad $S=92\%$ y una especificidad $E=100\%$, lo que indica la gran utilidad de esta técnica para diagnosticar HAD en muestras de BAL.

Dentro de la lista de pacientes estudiados y analizados con sospecha de HAD, se obtuvieron tres con un diagnóstico falsamente negativo (hemosiderofagos $< 20\%$), mientras que la historia clínica confirmaba el diagnóstico de HAD. Analizando y buscando las causas de los resultados, se detectó que las muestras habían sido tomadas antes de las 36 h de ocurrido el evento. Entre las condiciones preanalíticas, la más importante es el tiempo transcurrido desde el comienzo de los síntomas de HAD hasta el momento en el que se realiza la toma de la muestra. En los tres pacientes, el tiempo transcurrido desde el comienzo de los síntomas hasta la realización de la fibrobroncoscopia fue menor de 36 h. Ioachimescu *et al.* indicaron que los complejos de hemosiderina comienzan a formarse en el citoplasma de los macrófagos alveolares luego de las 36 h de ocurrido el sangrado en los alvéolos (22). Esto fue corroborado al analizar una segunda muestra de esos mismos pacientes luego de 48 h de haberse analizado la primera, obteniéndose en este segundo análisis un valor de hemo-

siderófagos mayor del 20% y ratificando el diagnóstico de HAD presente en la historia clínica.

El análisis de estos tres pares de muestras se realizó con el fin de poder estudiar y verificar el tiempo a partir del cual la técnica citoquímica de Perls puede ser utilizada con una alta sensibilidad para establecer correctamente el diagnóstico de HAD y evitar así los resultados falsamente negativos. Se puede concluir que existe un período de ventana comprendido entre 0 y 36 h luego de comenzado los primeros síntomas de HAD, en el cual la técnica citoquímica de Perls no podrá revelar la presencia de hemosiderina en el interior de los macrófagos alveolares, independientemente de la existencia de la patología. Esto se debe al tiempo fisiológico requerido para la formación de los complejos de hemosiderina y su posterior identificación citológica (9) (10) (12).

En estos casos se sugiere el análisis de una segunda muestra de BAL luego de las 36 h de iniciados los primeros síntomas de HAD, para corroborar el porcentaje de hemosiderófagos y establecer con certeza el diagnóstico de la patología respiratoria.

Ratificando lo postulado por Maldonado *et al.*, se concluye que las enfermedades autoinmunes son la causa más frecuente para HAD en la población estudiada (13). No se observó una diferencia significativa en los valores de la mediana para hemosiderófagos entre este grupo etiológico y las demás patologías observadas ($p=0,5$).

De los 39 pacientes estudiados con sospecha de HAD, un total de 20 sobrevivieron y el resto falleció en el transcurso de los 12 meses, donde el 52% no superó los 15 días. La mediana de hemosiderófagos positivos, para ambos grupos de pacientes, no presentó diferencia estadísticamente significativa: 64% y 70% para pacientes sobrevivientes y fallecidos, respectivamente ($p=0,25$).

El porcentaje de macrófagos cargados con hemosiderina tiene un gran valor diagnóstico al reafirmar el punto de corte mayor o igual a 20% de hemosiderófagos en BAL, siempre que se obtenga la muestra luego de las 36 h de transcurrido el evento, pero carece de valor pronóstico ya que no se puede conocer el desenlace del paciente con esta metodología.

La muestra de BAL, obtenida mediante fibrobroncoscopia, es óptima para realizar el diagnóstico de HAD mediante la búsqueda e identificación de macrófagos cargados con hemosiderina utilizando la técnica citoquímica de Perls, con una alta sensibilidad y especificidad.

Este estudio demuestra la gran utilidad de la técnica para realizar el diagnóstico de HAD en muestras de BAL (hemosiderófagos $\geq 20\%$ en muestras de BAL obtenidas luego de las 36 h).

En aquellas situaciones en donde el porcentaje de hemosiderófagos sea $< 20\%$ en muestras de BAL remitidas antes de las 36 h de comenzado el evento y la clínica acompañe la sospecha de HAD, se recomienda el análisis de una segunda muestra luego de 36-48 h de iniciados los síntomas.

La sobrevivida de 49% ($n=19$) de los pacientes con HAD confirmado no supera los 12 meses y es más frecuente el fallecimiento dentro de los primeros 15 días luego de realizado el diagnóstico citológico de la patología. Se corrobora la alta mortalidad de la HAD, por lo que se propone que la búsqueda de macrófagos cargados con hemosiderina sea considerada una práctica de emergencia.

Fuentes de financiación

El financiamiento provino de los cursos de posgrado y la carrera de Especialización en Citología, ambos dictados por la Cátedra de Citología Exfoliativa y de la Reproducción. Laboratorio de Citología, Departamento de Bioquímica Clínica. Hospital de Clínicas José de San Martín. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

Correspondencia

Dra. ADRIANA ROCHER
Malabia 2321, 1er piso, Dpto 4
(1425) CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES
Correo electrónico: adrianarocher60@gmail.com

Referencias bibliográficas

- Román-Gómez J. Hemorragias alveolares difusas pulmonares. Arch Bronconeumol 2008; 44 (8): 428-36.
- Buendía-Roldán I, Navarro C, Rojas -Serrano J. Hemorragia alveolar difusa: causas y desenlaces en un instituto de tercer nivel. Reumatol Clín 2010; 6 (4): 196-8.
- Collard HR, Schwarz MI. Diffuse alveolar hemorrhage. Clin Chest Med 2004; 25 (3): 583-92.
- Caballero Martínez A, Guzmán Córdoba A, Escobar R. Enfoque inicial del paciente con hemorragia alveolar difusa sin vasculitis pulmonar. Rev Colomb Neumol 2012; 23 (4): 118-23.
- Newsome BR, Morales JE. Difusse alveolar hemorrhage. South Med J 2011; 104 (4): 269-74.
- Park MS. Difusse alveolar hemorrhage. Tuberc Respir Dis 2013; 74: 151-62.
- Specks U. Diffuse alveolar hemorrhage syndromes. Curr Opin Rheumatol 2001; 13 (1): 12-7.
- Lara AR, Schwarz MI. Diffuse alveolar hemorrhage. Chest 2010; 137 (5): 1164-71.
- Chen XY, Sun JM, Huang XJ. Idiopathic pulmonary hemosiderosis in adults: review of cases reported in the latest 15 years. Clin Respir J 2017; 11 (6): 677-81.
- Vijayan V, Wagener F, Inmenschuh S. The macrophage heme-hemoxygenase-1 system and its role in inflam-

- mation. *Biochem Pharmacol* 2018; 153: 159-67.
11. Garcia N, Eandi Eberle S, Feliú Torres A, Musso AM. *Hematología* 2010; 14 (2): 48-57.
 12. Naito Y, Takagi T, Higashimura Y. Heme oxygenase-1 and anti-inflammatory M2 macrophages. *Arch Biochem Biophys* 2014; 564: 83-8.
 13. Maldonado F, Parambil JG, Yi ES, Decker PA, Ryu JH. Haemosiderin-laden macrophages in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with diffuse alveolar damage. *Eur Respir J* 2009; 33 (6): 1361-6.
 14. Escuissato DL, Warszawiak D, Marchiori E. Differential diagnosis of diffuse alveolar haemorrhage in immunocompromised patients. *Curr Opin Infect Dis* 2015; 28 (4): 337-42.
 15. Meguro R, Asano Y, Odagiri S, Li C, Iwatsuki H, Shoumura K. Noheme-iron histochemistry for light and electron microscopy: a historical, theoretical and technical review. *Arch Histol Cytol* 2007; 70 (1): 1-19.
 16. Crudo C, Erramouspe B, Sueldo E, Arias M. Tinción de hierro medular. Coloración de Perls. *Hematología* 2006; 20 (2): 243-6.
 17. Rabiller A, Jaïs X, Hamid A, Resten A, Parent F, Haque R, *et al.* Occult alveolar haemorrhage in pulmonary veno-occlusive diseases. *Eur Respir J* 2006; 27: 108-13.
 18. Lassence A, Fleury-feith J, Escudier E, Beaune J, Bernaudin J-F, Cordonnier C. Alveolar hemorrhage. Diagnostic criteria and results in 194 immunocompromised hosts. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151 (1): 157-63.
 19. Finley TN, Aronow A, Cosentino AM, Golde DW. Occult pulmonary hemorrhage in anticoagulated patients. *Am Rev Respir Dis* 1975; 112 (1): 23-9.
 20. Drew WL, Finley TN, Golde DW. Diagnostic lavage and occult pulmonary hemorrhage in thrombocytopenic immunocompromised patients. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116 (2): 215-21.
 21. Golde DW, Drew WL, Klein HZ, Finley TN, Cline MJ. Occult pulmonary hemorrhage in leukaemia. *Br Med J* 1975; 2 (5964): 166-8.
 22. Ioachimescu OC, Sieber S, Kotch A. Idiopathic pulmonary haemosiderosis. *Eur Respir J* 2004; 24:162-70.

Recibido: 23 de diciembre de 2021

Aceptado: 25 de octubre de 2022