

Evaluation of Adenosine Deaminase activity in tuberculous pleural effusion

Avaliação da atividade da adenosina deaminase no derrame pleural tuberculoso

ABSTRACT | Introduction: Tuberculosis (TB) is a major global health problem and requires special attention from health professionals and society as a whole. Among the extrapulmonary forms, pleural TB stands out as the most common cause of pleural effusion (PE). To perform a differential diagnosis between tuberculous and non-tuberculous PE is a critical clinical problem, since the conventional methods are not always useful in diagnosis, because they present limitations. Adenosine deaminase (ADA) is an enzyme found mainly in lymphocytes, directly related to the activation of these cells and plays an important role in the immune system. **Objective:** To verify the activity of ADA in pleural effusion of patients treated at the University Hospital of Santa Maria, to aid in the diagnosis of pleural TB, as well as the relationship of the enzyme with biochemical parameters routinely performed in pleural fluid as protein, glucose and lactate dehydrogenase activity (LDH). **Methods:** Through a retrospective study, it was analyzed 200 medical records of patients admitted with pleural effusion from December 2008 to December 2011. Statistical analyses was performed by non-parametrical tests, Kruskal – Wallis and Pearson correlation, the data were expressed as median (25% e 75% percentis) and a p value <0.05 was considered significant. **Results:** The activity of ADA in pleural fluid was found to be increased in patients with tuberculous PE. Furthermore, the enzyme activity was positively correlated with the levels of protein and LDH among the general population involved in the study. **Conclusion:** The determination of ADA activity is a precise procedure with good sensitivity and can be suggested as an important marker of tuberculosis PE, which could aid in the differential diagnosis of the disease.

Keywords | Tuberculosis pleural; Adenosine deaminase; Biomarker.

RESUMO | Introdução: A tuberculose (TB) é um importante problema de saúde pública mundial que exige atenção especial dos profissionais de saúde e da sociedade como um todo. Dentre as formas extrapulmonares, a TB pleural se destaca como a causa mais comum de derrame pleural (DP). Realizar um diagnóstico diferencial entre DP tuberculoso e não tuberculoso é um problema clínico crítico, já que os métodos convencionais nem sempre são úteis no diagnóstico, uma vez que apresentam limitações. A adenosina deaminase (ADA) é uma enzima encontrada principalmente nos linfócitos. Está diretamente relacionada com a ativação dessas células e apresenta um papel importante no sistema imune. **Objetivo:** Avaliar a atividade da ADA no derrame pleural de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria, a fim de auxiliar no diagnóstico da TB pleural, assim como analisar a relação dessa enzima com parâmetros bioquímicos rotineiros realizados no líquido pleural, como proteína, glicose e a enzima lactato desidrogenase (LDH). **Métodos:** Em um estudo retrospectivo, foram analisados 200 prontuários de pacientes internados com derrame pleural no período de dezembro de 2008 a dezembro de 2011. A análise estatística foi realizada pelo teste não paramétrico, Kruskal – Wallis e correlação de Pearson. Os dados foram expressos em mediana (25% e 75% percentis) e o valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** A atividade da ADA em líquido pleural mostrou-se aumentada nos pacientes portadores de DP tuberculoso. Além disso, a atividade da enzima correlacionou-se positivamente com os níveis de proteínas e LDH entre a população estudada envolvida no estudo. **Conclusão:** A determinação da atividade da ADA é um procedimento preciso e de boa sensibilidade e pode ser sugerida como um importante marcador de DP tuberculoso, podendo auxiliar no diagnóstico diferencial da doença.

Palavras-chave | Tuberculose pleural; Adenosina desaminase; Biomarcador.

¹Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, Brasil.

INTRODUÇÃO |

A tuberculose (TB) é considerada um dos graves problemas de saúde pública que afeta a população. Está distribuída pelos cinco continentes do globo, e o fato de existir tratamento e cura não tem impedido que haja expressivo crescimento dos indicadores de morbimortalidade, o que representa grande desafio para as autoridades sanitárias no Brasil e no mundo. Embora tenham sido desenvolvidas políticas e estratégias para o controle da doença, o empobrecimento, a urbanização, a favelização, as intensas migrações e a pandemia da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) têm comprometido mundialmente o combate contra a TB¹.

Apesar de a doença pulmonar ser a mais comum de apresentação clínica da TB; dentre as formas extrapulmonares, a tuberculose pleural, como derrame pleural, destaca-se como a causa mais comum².

Fazer um diagnóstico diferencial entre DP tuberculoso e não tuberculoso é um problema clínico crítico, e os métodos convencionais, como exame direto de líquido pleural por coloração de Ziehl-Neelsen, cultura de líquido pleural e biópsia pleural, nem sempre são úteis no diagnóstico, uma vez que apresentam limitações³.

Devido à alta taxa de prevalência da TB no Brasil e pelas dificuldades ainda hoje existentes para o diagnóstico da TB pleural, faz-se necessária a investigação de métodos diagnósticos, rápidos e eficazes, que tenham bom custo-benefício e possam ser realizados em qualquer parte do País sem necessidade de grandes investimentos. Neste contexto, a adenosina deaminase (ADA) (E.C 3.5.4.4)

De acordo com a International Union of Biochemistry and Molecular Biology, a Comissão de Enzimas estabelece a padronização da identificação enzimática que caracteriza exatamente cada enzima. Para a adenosina deaminase (ADA), essa designação significa: E.C. (enzyme commission) 3 – hidrolase; E.C 3.5 – age nas ligações C-N; E.C 3.5.4 – em amidinas cíclicas; E.C 3.5.4.4 – Adenosina Deaminase. Essa designação é usada internacionalmente na identificação enzimática. A enzima que catalisa a conversão da adenosina à inosina está presente em quase todos os vertebrados e, no homem, é encontrada principalmente nos linfócitos, diretamente relacionada com a ativação dessas células. Essa enzima apresenta um papel importante no sistema imune, alta atividade nos linfócitos T e macrófagos⁴.

Desde a sua descrição, há 30 anos, a medição da atividade ADA no fluido pleural é considerada por alguns como

um padrão de referência importante para identificar tuberculose pleural na prática clínica^{5,6}, enquanto, para outros, é apenas uma ajuda para o diagnóstico diferencial do derrame pleural⁷. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade da ADA e examinar sua possível relação com parâmetros bioquímicos rotineiros realizados no líquido pleural, como proteína, glicose e a enzima lactato desidrogenase (LDH), a fim de auxiliar no diagnóstico da tuberculose pleural.

MÉTODOS |

A coleta dos dados foi realizada pela análise retrospectiva dos prontuários de pacientes internados no Hospital Universitário de Santa Maria com derrame pleural, com solicitação de determinação da atividade da ADA. O período de estudo foi de dezembro de 2008 a dezembro de 2011. Para isso, foi utilizado um formulário padrão que incluiu os valores de dosagens realizadas no líquido pleural, como atividade das enzimas Adenosina Desaminase e Lactato Desidrogenase (LDH), proteínas totais e glicose, bem como o diagnóstico estabelecido pela equipe médica para o derrame pleural.

De acordo com o diagnóstico estabelecido, os pacientes foram divididos em quatro grupos: Derrame Pleural Tuberculoso (DPT), Derrame Pleural Parapneumônico (DPP), Derrame Pleural Neoplásico (DPN) e Etiologias diversas. Este último grupo incluiu pacientes com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico, pleurite, linfoma Não-Hodgkin e empiema.

Os pacientes que não apresentavam diagnóstico estabelecido ou não apresentavam todos os itens contidos no formulário foram excluídos do estudo. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (23081.018886/2010-71).

Os dados foram analisados por meio do pacote estatístico SPSS versão 11 e expressos em mediana (25% e 75% percentis). Devido à presença de valores de ADA bastante variáveis, o teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar a distribuição de parâmetros bioquímicos entre os quatro grupos de DP e valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Além disso, os valores de ADA foram transformados em logaritmo natural ($\log n$) para a análise de regressão linear e, por intermédio de coeficiente de correlação de Pearson (r), foram determinadas as correlações entre as variáveis.

RESULTADOS |

Caracterização da população de estudo

De acordo com os critérios especificados acima, os pacientes que não apresentavam diagnóstico estabelecido ou não tinham todos os itens contidos no formulário utilizado foram excluídos do estudo. Assim, um total de 200 prontuários foi analisado, e foram incluídos 98. Desses, 15 apresentaram derrame pleural tuberculoso, 39 derrames pleurais parapneumônico, 25 derrames pleurais neoplásicos e 19 apresentaram derrame devido a outras patologias.

As características descritivas da população em estudo estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Etiologia do derrame pleural e caracterização dos grupos, Santa Maria, 2008-2011

Etiologia	N (%)	Homens/ Mulheres	Idade
DPT	15 (15,3%)	10:5	38 (28 - 72)
DPP	39 (39,8%)	25:14	48,5 (25,5 – 70,5)
DNP	25 (25,5 %)	12:13	56 (48,5 – 64,5)
Diversos	19 (19,4%)	10:9	60 (39 - 73)
Total	98 (100%)	57:41	

DPT – derrame pleural tuberculoso;
 DPP – derrame pleural parapneumônico;
 DNP – derrame pleural neoplásico
 Valores expressos em mediana (25% e 75%).

Relação entre atividade de ADA e parâmetros analisados

As medianas da atividade da ADA, concentração de glicose, de proteína e atividade de LDH para cada grupo de derrame pleural estão descritas na Tabela 2. Pacientes

com TB apresentaram aumento da atividade da ADA, quando comparados com pacientes com derrame pleural não tuberculoso ($p < 0.001$). Nenhum DPT apresentou valores de ADA inferiores a 40U/L e apenas dois DPP apresentaram valores de ADA superiores a esse valor.

Além disso, os valores de log n ADA da população em estudo correlacionaram-se positivamente com os níveis de proteína do fluido pleural ($r = 0.578$, $p < 0.001$) (Figura 1A) e com os valores de atividade da LDH ($r = 0.348$, $p < 0.001$) (Figura 1B).

Figura 1 – Correlação entre proteína (A) e logaritmo natural da ADA e entre LDH (B) e logaritmo natural da ADA no derrame pleural, Santa Maria, 2008-2011

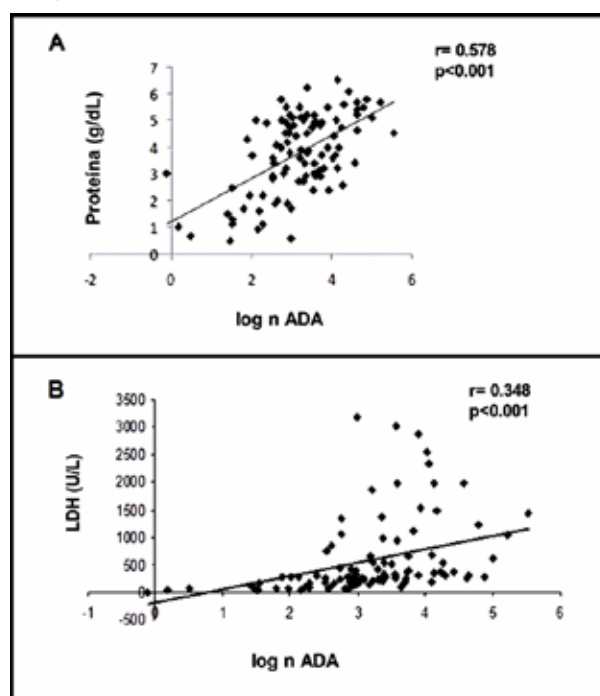


Tabela 2 – Parâmetros bioquímicos no derrame pleural de diferentes grupos, Santa Maria, 2008-2011

Etiologia	ADA (U/L)	Proteína (g/dL)	Glicose (mg/dL)	LDH (U/L)
DPT	70.5 (49 – 103.4)*	5.15 (4.7 – 5.7)	85.0 (65.0 – 112.0)	354.0 (289.0 – 618.0)
DPP	26.15 (14.65 – 41.60)	3.3 (2.4 – 4.5)	88.0 (68.5 – 133.5)	332.0 (151.0 – 948.0)
DNP	18.6 (13.1 – 26.1)	4.4 (3.7 – 5)	81.0 (29.0 – 98.5)	275.0 (227.0 – 796.5)
Diversos	17.20 (9.1 – 35.6)	2.95 (2.05 – 4.45)	103.0 (79.0 – 161.0)	193.0 (75.0 – 323.0)

ADA – adenosina deaminase;
 LDH – lactato desidrogenase;
 DPT – derrame pleural tuberculoso;
 DPP – derrame pleural parapneumônico;

DNP – derrame pleural neoplásico;
 Valores expressos em mediana (25% e 75%)
 * $p < 0.001$, DPT em relação aos outros grupos.

DISCUSSÃO |

Um derrame pleural (DP) de etiologia incerta é um problema comum de diagnóstico, pois é manifestado em várias doenças, especialmente na tuberculose. A atividade de ADA tem sido utilizada como um bom marcador para diferenciação de derrame pleural tuberculoso (DPT) de outros derrames pleurais exsudativos.

A determinação da atividade da ADA no DP já foi estudada em diferentes partes do mundo e muitos autores a recomenda como teste diagnóstico útil na investigação da tuberculose pleural, principalmente em regiões onde existe alta prevalência de tuberculose^{8,9}. Uma metanálise realizada no Brasil, reunindo 1.674 casos de DP, 51,2% eram devido à tuberculose, relata uma sensibilidade de 91,8% e especificidade de 88,4%, comprovando uma elevada acurácia da dosagem da ADA como teste diagnóstico e sua utilidade na prática clínica¹⁰.

Os resultados do presente trabalho corroboram outros estudos^{5,11,12,13} nos quais os níveis de ADA no DPT foram significativamente maiores do que nos outros tipos de derrame. Além disso, foi observado que nenhum DPT apresentou atividade de ADA inferior a 40U/L, validando a recomendação da Sociedade de Pneumologia e Fisiologia¹⁴. A presença dessa atividade no DPT representa a resposta imune celular, principalmente a ativação de linfócitos T. Essas células liberam ADA durante o processo de ativação que ocorre na presença de patógenos intracelulares¹⁵.

Como já citado por alguns autores, cerca de um terço de DPP apresenta valores de ADA que excedem 40 U/L¹⁶. No presente estudo, também foi observado que dois DPPs apresentaram valores de ADA superiores a 40 U/L. Porém, DPT e DPP são facilmente distinguidos tanto pelos quadros clínicos quanto pelo fato de DPP ter leucócitos polimorfonucleares predominantemente em vez dos linfócitos típicos de TB¹⁷. Por esse motivo, alguns autores têm sugerido a importância da associação de algumas variáveis, como a história clínica do paciente, e parâmetros analisados para aumentar a capacidade de diagnosticar ou excluir a tuberculose^{18,19}.

A dosagem de proteínas e de LDH no líquido pleural é utilizada geralmente para classificá-lo em transudativo ou exsudativo. O DP exsudativo é caracterizado por níveis elevados de proteínas e LDH²⁰. O DPT é caracteristicamente um exsudato no qual geralmente os níveis de proteínas estão aumentados (superior a 4,5g/dL) e estão mais elevados que os encontrados em exsudatos de outras etiologias²¹. O presente estudo mostra

que o aumento nos valores da atividade da ADA pode ser acompanhado pelo aumento dos níveis de proteína e de atividade de LDH no derrame pleural. De fato, os resultados demonstraram uma correlação moderada, mas significativa entre esses parâmetros.

Ghanei e colaboradores¹⁸ avaliaram a atividade das enzimas ADA e LDH, além do nível de proteína e do tipo celular em líquido pleural, e mostraram que a associação entre esses parâmetros se apresentou eficiente e específica para estabelecer o diagnóstico de DPT. Já Neves e colaboradores¹⁹ obtiveram uma boa performance para diagnóstico de DPT, quando associaram níveis de ADA, total de leucócitos, percentual de linfócitos, proteína e LDH, reforçando a eficiência da ADA no diagnóstico de TB pleural. No entanto, é importante que sejam realizados estudos coorte prospectivos com maior número amostral para confirmar os resultados observados.

CONCLUSÃO |

Mesmo com um número pequeno de casos de DPT, foi observado um aumento significativo da atividade da ADA pleural desses pacientes, o que vai ao encontro de resultados obtidos em estudos anteriores que consideram a ADA como um importante marcador de DPT. Sabendo que métodos diagnósticos atuais levam para apresentar resultados maior tempo e são mais invasivos, a determinação da atividade da ADA, por ser uma técnica de fácil e de rápida execução, pode ser útil para aperfeiçoar o diagnóstico e, assim, diminuir o tempo entre o início dos sintomas e o tratamento específico, melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS |

- 1 - Kritski AL, Villa TS, Trajman A, Lapa e Silva JR, Medronho RA, Ruffino-Netto A. Duas décadas de pesquisa em tuberculose no Brasil: estado da arte das publicações científicas. *Rev Saúde Pública*. 2008; 41:9-14.
- 2 - Liam CK, Lim KH, Wong CM. Causes of pleural exudates in a region with a high incidence of tuberculosis. *Respirology*. 2000; 5: 33-8.
- 3 - Bento J, Silva AS, Rodrigues F, Duarte R. Métodos diagnósticos em tuberculose. *Acta Med Port*. 2011; 24: 145-54
- 4 - Gorguner M, Cerci M, Gorguner I. Determination

of adenosine deaminase activity and its isoenzymes for diagnosis of pleural effusions. *Respirology*. 2000; 5: 321-4.

5 - Valdés L, Pose A, San José E, Vázquez JMM. Tuberculous pleural effusions. *Eur J Intern Med*. 2003; 14:77-88.

6 - Segura RM, Pascual C, Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Ribera E, Ruiz I *et al.* Adenosine deaminase in body fluids: a useful diagnostic tool in tuberculosis. *Clin Biochem*. 1989; 22:141-8.

7 - Liu YC, Lee SSJ, Chenf YS, Tu HZ, Chen BC, Huang TS. Differential diagnosis of tuberculous and malignant pleurisy using pleural fluid adenosine deaminase and interferon gamma in Taiwan. *J of Microb Immunol and Infection*. 2011; 44: 88-94.

8 - Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux I, Taljaard JJF. Use of adenosine deaminase as a diagnostic tool for tuberculous pleurisy. *Thorax*. 1995; 50:672-4.

9 - Kataria YP, Khurshid I. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest*. 2001; 120: 334-6.

10 - Morisson P, Neves DD. Avaliação de adenosina deaminase no diagnóstico da tuberculose pleural: uma metanálise brasileira. *J Bras Pneumol*. 2008; 34: 217-24.

11 - Kaisemann MC, Kritski AL, Pereira MFC, Trajman A. Dosagem da atividade de adenosina deaminase no líquido pleural para o diagnóstico da tuberculose pleural. *J Bras Pneumol*. 2004; 30:549-56.

12 - Perez-Rodrigues E, Castro DJ. The use of ADA and ADA isoenzymes in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Curr Opin Pulm Dis*. 2000; 6: 259-66.

13 - Titarenko OT, Potapenko EI, Kokkanen BM, Prokhorovich NA, Oleńnik AN, Nakonechnyĭ GD, *et al.* Adenosine deaminase in the complex diagnosis of different forms of extrapulmonary tuberculosis. *Probl Tuberk Bolezn Legk*. 2006; 11:14-8.

14 - Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. I Consenso Brasileiro de Tuberculose. *J Pneumol*. 1997; 23:294-301.

15- Roth BJ. Searching for tuberculosis in the pleural space. *Chest*. 1999; 116:3-5.

16 - Porcel JM, Vives M, Esquerda A, Ruiz A. Usefulness

of the British Thoracic Society and the American College of Chest Physicians guidelines in predicting pleural drainage of non-purulent parapneumonic effusions. *Respir Med*. 2006; 100: 933-7.

17 - Porcel JM. Tuberculous pleural effusion. *Lung*. 2009; 187: 263-70.

18 - Ghanei M, Aslani J, Bahrami H, Adhami H. Simple method for rapid diagnosis of tuberculosis pleuritis: a statistical approach. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2004; 1: 23-9.

19 - Neves DD, Dias RM, Ledo A. Predictive model for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Braz J Infect Dis*. 2007; 11:83-8.

20 - Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med*. 1972; 77:507-13.

21 - Valdés L, Álvarez D, San José E, Penela P, Valle JM, García-Pazos JM *et al.* Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. *Arch Intern Med*. 1998; 158:2017-21.

Suporte financeiro: CNPq, FAPERGS, CAPES.

Endereço para correspondência/Reprint request to:

Maria Beatriz Moretto

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM Avenida Roraima, 1000

Santa Maria - RS

Cep.: 97105-900

E-mail: beatriz@smail.ufsm.br

Recebido em: 14-12-2012

Aceito em: 29-3-2013