

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

FACULDADE DE MEDICINA

MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:

ATENÇÃO INTEGRADA À SAÚDE

DA MULHER E DA CRIANÇA

PALOMA FERREIRA MEIRELES VAHIA

DOSAGEM DA ENZIMA DESIDROGENASE LÁTICA TOTAL

EM PACIENTES COM DERRAME PLEURAL:

INFLUÊNCIA DO SEXO E IDADE

SOBRE O VALOR DE REFERÊNCIA

Niterói/RJ

2017

PALOMA FERREIRA MEIRELES VAHIA

DOSAGEM DA ENZIMA DESIDROGENASE LÁTICA TOTAL

EM PACIENTES COM DERRAME PLEURAL:

INFLUÊNCIA DO SEXO E IDADE SOBRE O VALOR DE REFERÊNCIA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Saúde Materno-Infantil. Área de Concentração: Atenção Integrada à Saúde da Mulher e da Criança

Orientadora: Profa. Dra. Analucia Rampazzo Xavier (Faculdade de Medicina – Departamento de Patologia)

Coorientador: Prof. Dr. Cyro Teixeira da Silva Junior (Faculdade de Medicina – Departamento de Medicina Clínica)

Niterói/RJ

2017

V127 Vahia, Paloma Ferreira Meireles
Dosagem da enzima desidrogenase láctica total
em pacientes com derrame pleural: influência do sexo
e idade sobre o valor de referência / Paloma
Ferreira Meireles Vahia.- Niterói: 2017.
65f.

Orientadora: Analucia Rampazzo Xavier.
Coorientador: Cyro Teixeira da Silva Junior.

Dissertação (Mestrado em Saúde Materno-Infantil)-
Universidade Federal Fluminense, Faculdade de
Medicina, 2017.

1. L-Lactato Desidrogenase. 2. Derrame Pleural-
Diagnóstico. 3. Derrame Pleural-Complicações. 4.
Valores de Referência. 5. Empiema. 6. Exsudatos e
Transudatos. 7. Tuberculose Pleural. I. Título.

CDD 616.241

PALOMA FERREIRA MEIRELES VAHIA

DOSAGEM DA ENZIMA DESIDROGENASE LÁTICA TOTAL

EM PACIENTES COM DERRAME PLEURAL:

INFLUÊNCIA DO SEXO E IDADE SOBRE O VALOR DE REFERÊNCIA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Saúde Materno-Infantil. Área de Concentração: Atenção Integrada à Saúde da Mulher e da Criança.

Aprovada por:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Maria de Fátima Bazhuni Pombo March Universidade Federal Fluminense (UFF)

Prof. Dr. Carlos Leonardo Carvalho Pessôa- Universidade Federal Fluminense (UFF)

Prof. Dr. Rodolfo Fred Behrsin - Universidade do Rio de Janeiro (UNIRIO)

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida, a minha família. Com ela, tudo se torna possível.

AGRADECIMENTOS

À professora ,Analucia Rampazzo Xavier, minha orientadora, brilhante mestre, pela paciência, entusiasmo, dedicação e todo apoio oferecido.

Ao professor Cyro Teixeira da Silva Junior, meu coorientador, pela extrema competência e por todos os ensinamentos transmitido, pela realização da parte estatística do trabalho e pela redação em inglês do manuscrito enviado para publicação.

À professora Angela Santos Ferreira Nani, exemplo de mestre, por ter sido a grande incentivadora para que eu seguisse em frente e realizasse esse trabalho.

Ao professor Eduardo Nani, exemplo de ser humano.

À professora Tania Teixeira da Silva Nunes, pela revisão de português do texto.

A todos os professores da pneumologia da UFF, que ao longo desses anos contribuíram para o meu crescimento acadêmico.

Aos pacientes do ambulatório, que contribuíram para a realização deste trabalho.

“É fundamental diminuir a distância entre o que se diz e o que se faz, de tal maneira que, num dado momento, a tua fala seja a tua prática”

Paulo Freire

“Adoramos a perfeição, porque não a podemos ter; repugna-la-íamos se a tivéssemos. O perfeito é o desumano porque o humano é imperfeito”.

Fernando Pessoa

RESUMO

Introdução: A utilidade da dosagem da desidrogenase láctica (DLH) total pleural como biomarcador para o diagnóstico diferencial da síndrome do derrame pleural (SDP) não está estabelecida na prática clínica. Não existem valores de referência determinados no líquido pleural considerando o sexo e idade dos pacientes no Brasil.

Objetivo: O objetivo primário deste estudo foi avaliar o valor da DLH total do líquido pleural (DLH-P) para o diagnóstico etiológico do SDP. O objetivo secundário foi determinar a influência da idade e do sexo na precisão diagnóstica da análise de DLH-P no diagnóstico diferencial de derrames pleurais selecionados de acordo com o objetivo primário.

Casuística, material e métodos: Para evitar erros ocorridos neste estudo de teste de diagnóstico, foram aplicados os critérios metodológicos recomendados pelo Instituto de Padrões Clínicos e de Laboratório e os Padrões para Relatórios de Precisão de Diagnóstico. A pesquisa original foi um estudo prospectivo de precisão diagnóstica realizado entre março de 2002 e junho de 2017, envolvendo pacientes submetidos à toracocentese e biópsia pleural em um centro de referência terciária, a saber, Centro de Ensino e Pesquisa em Pleurologia na Universidade Fluminense Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Um ensaio automatizado de DLH foi realizado para um estudo de precisão diagnóstica. O Comitê de Ética aprovou este estudo de acordo com as recomendações constantes da Declaração de Helsinque sob o protocolo número 80/02.

Resultados: Um total de 308 dosagens de DLH no soro ($n = 137$) e fluidos pleurais ($n = 171$) foi realizado. As medianas nos níveis de DLH-P do derrame pleural parapneumônico complicado (DPPC) e do empiema não foram diferenciadas pelo teste de Kruskal-Wallis ($P > 0,05$). Uma correlação negativa do nível de DLH-P com o sexo em pacientes com DPPC / empiema pleural foi significativa ($Rho = -0,661$, $P = 0,0376$, $r^2 = 0,4369$). Não houve correlação significativa entre o nível de LDH-P e o ponto de corte para uma idade dicotomizada de 48 anos ($Rho = 0,170$, $P = 0,5448$, $r^2 = 0,0289$). Para o diagnóstico de DPPC / empiema pleural, os melhores valores de corte de acordo com a curva ROC para DLH-P foram maiores que 1188,0 U / L para homens ($AUC = 0,957$, $95\% IC = 0,902-0,986$, $P < 0,0001$) e maior que 1372,0 U / L ($AUC = 0,985$, $IC 95\% = 0,912-1,00$, $P < 0,0001$) para mulheres.

Conclusão: A DLH é útil como biomarcador diagnóstico para a síndrome do derrame pleural. O sexo tem uma influência significativa no valor de corte da DLH-P para o diagnóstico de DPPC e empiema pleural que deve ser tratada como uma única doença com drenagem de tubo torácico e outras gerências.

Palavras-chave: lactato desidrogenase. Valores de referência. Derrame pleural. Empiema. Complicações.

ABSTRACT

Introduction: The usefulness of pleural total LDH as a biomarker for the differential diagnosis of pleural effusion syndrome (PES) is not established in clinical practice. There are no established reference values in pleural fluid considering the sex and age of patients in Brazil.

Objective: The primary objective of our study was to evaluate the value of pleural fluid total LDH (P-LDH) for the etiologic diagnosis of PES. The secondary objective was to determine the influence of age and sex on diagnostic accuracy of P-LDH analysis in the differential diagnosis of pleural effusions selected according to our primary objective.

Methods: To prevent errors in this diagnostic test study, we applied the methodological criteria recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute and the Standards for Reporting Diagnostic Accuracy. The original research was a prospective study of diagnostic accuracy conducted between March 2002 and June 2017 involving patients who underwent thoracentesis and pleural biopsy at a tertiary referral center, namely Center for Teaching and Research in Pleurology at Universidade Federal Fluminense located in the State of Rio de Janeiro, Brazil. An automated LDH assay was performed for a diagnostic accuracy study. The Ethics Committee approved this study in accordance with the recommendations in the Declaration of Helsinki under protocol number 80/02.

Results: A total of 308 dosages of LDH in serum (n=137) and pleural fluids (n=171) was carried out. The medians in P-LDH levels from complicated parapneumonic effusion (CPPE) and empyema were not differentiated by Kruskal-Wallis test ($P > 0.05$). A negative correlation of the P-LDH level with sex in patients with CPPE/pleural empyema was found to be significant ($Rho = -0.661$, $P = 0.0376$, $r^2 = 0.4369$). There was not a significant correlation between the P-LDH level and the cut-off point for a dichotomized age of 48 years ($Rho = 0.170$, $P = 0.5448$, $r^2 = 0.0289$). For the diagnosis of CPPE/pleural empyema, the best cut-off values according to the ROC curve for P-LDH were greater than 1188.0 U/L for male ($AUC = 0.957$, $95\%CI = 0.902-0.986$, $P < 0.0001$) and greater than 1372.0 U/L ($AUC = 0.985$, $95\%CI = 0.912-1.00$, $P < 0.0001$) for female.

Conclusion: The LDH is useful as a diagnostic biomarker for pleural effusion syndrome. Sex have a significant influence on the cut off value of P-LDH for the diagnosis of CPPE and pleural empyema that should be treated as a single disease with chest tube drainage and others procedures.

Key words: Lactate Dehydrogenase. Reference values. Pleural effusion. Empyema. Complications.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Características demográficas e causas de 174 pacientes com síndrome de derrame pleural	34
Tabela 2: Avaliação quantitativa da desidrogenase láctica (LDH) nos soros (DLH-S) e líquidos pleurais (DLH-P) em 174 pacientes com síndrome de derrame pleural	36
Tabela 3: Análise de correlação de Spearman no estudo da desidrogenase láctica nos líquidos pleurais (DLH-P) entre idade e sexo em 31 pacientes com empiema pleural e derrame pleural parapneumônico complicado	39
Tabela 4: Desempenho diagnóstico da DLH- P (U/L) como biomarcador para empiema e derrame pleural parapneumônico complicado como o melhor ponto de corte para homens e mulheres em 174 pacientes com síndrome de derrame pleural	44
Figura 1: Fluxograma da casuística e relações hierárquicas que se desenvolveram de cima para baixa em um roteiro dos exames e procedimentos nos 456 pacientes com SDP	26
Figura 2: Fluxograma com critérios de exclusão dos pacientes para dosagens do biomarcador desidrogenase láctica total	27
Figura 3: Fluxograma com organograma usado para mostrar informações hierárquicas para dosagens de desidrogenase láctica total	33
Figura 4: Análise de correlação de Spearman no estudo da desidrogenase láctica nos líquidos pleurais (DLH-P) entre idade e sexo em pacientes com empiema pleural e derrame pleural parapneumônico complicado	40
Figura 5: Curvas ROC da DLH nos líquidos pleurais no sexo masculino e sexo feminino	42
Figura 6: Diagrama de ponto interativo. As linhas horizontais indicam os valores de referência selecionados pela curva ROC para os valores de LDH no sexo masculino e feminino entre os casos de DPPC e empiema comparado com os controles (outras causas de derrame pleural)	45

LISTA DE ABREVIATURAS

ACCP- *American College of Chest Physicians*

ADA- adenosina desaminase

AUC- área sob a curva ROC

BNP- peptídeo natriurético do tipo B

BTS- *British Thoracic Society*

CEA- antígeno carcinoembrionário

CNPB - biópsia pleural fechada com agulha de Cope

CK19- fragmentos solúveis da citoqueratina 19

DLH- enzima desidrogenase láctica

DLH-L ou DLH-P- desidrogenase láctica no líquido pleural

DLH- S- desidrogenase láctica no soro

DOR- *diagnostic odds ratio* (razão de chance)

DPP- derrame pleural parapneumônico

DPM- derrame pleural maligno

DPNC- derrame parapneumônico não complicado

DPPC- derrame pleural parapneumônico complicado

DS- drenagem simples

ETUS- ultra-sonografia transtorácica extracardíaca

FAN- fator antinúcleo

FDG - F18- fluordesoxiglicose

HIV- vírus da imunodeficiência humana

HUAP- Hospital Unifersitário Antônio Pedro

IC 95%- Intervalo de confiança com 95% de probabilidade

IC- insuficiência cardíaca

IFCC- Federação Internacional de Química Clínica

IL-27- interleucina-27

IP-10- proteína induzida por interferon- γ de 10 KDa

KW- Teste de Kruskal- Wallis

LP- líquido pleural

LES lúpus eritematoso sistêmico

MT- *Mycobacterium tuberculosis*

NSE- enolase neurônio -específica

NADH - nicotinamida-adenina dinucleotídeo na forma reduzida

NAD⁺ nicotinamida-adenina dinucleotídeo na forma oxidada

PA- postero-anterior

PAC- pneumonias adquiridas na comunidade

PCR- reação em cadeia da polimerase

PET-CT- scan- tomografia computadorizada por emissão de pósitrons

Ptn-T- proteínas totais

RM ressonância magnética

RV- Razão de verossimilhança

RVP-Razão de verossimilhança positivo

RVN-Razão de verossimilhança negativo

SDP- síndrome do derrame pleural

TC- tomografia computadorizada

TB- Tuberculose

VATS – cirurgia assistida por video -toracoscopia

VPP- valor preditivo positivo

VPN- valor preditivo negativo

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
1.INTRODUÇÃO	1
2.JUSTIFICATIVA	4
3.REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 A cavidade pleural	5
3.2 Principais causas de derrame pleural	7
3.2.1 Tuberculose pleural	8
3.2.2.Derrames pleurais parapneumônico	10
3.2.3 Derrame pleural maligno	13
3.2.4 Transudato	13
3.3 Diagnóstico do derrame pleural	14
3.3.1. Diagnóstico clínico	15
3.3.2. Exames de imagem	16
3.3.3. Toracocentese	17
3.3.4. Diagnóstico laboratorial	19
3.3.5 A enzima desidrogenase láctica	21
4. OBJETIVOS	24
5.CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS	25
5.1. Critérios de inclusão	26
5.2. Critérios de exclusão	27
5.3. Abordagem dos pacientes com SDP	28
5.4. Ensaio DLH	29
5.5. Análise estatística	30
6. RESULTADOS	32
6.1. Características dos pacientes	33
6.2. Avaliação da DLH no soro e no líquido pleural	35
7. DISCUSSÃO	46
8. CONCLUSÕES	53
9. REFERÊNCIAS	54
10. ANEXOS	63

1. INTRODUÇÃO

O derrame pleural é uma síndrome definida como um acúmulo anormal de líquido na cavidade pleural¹. Normalmente, 10 a 20 ml de líquido pleural (LP) está disperso sobre as pleuras viscerais e parietais, facilitando o movimento entre os pulmões e a parede torácica. O LP normal é um ultrafiltrado claro do plasma que se origina da pleura parietal e tem as seguintes características: um pH de 7,60-7,64, um teor de proteínas totais inferior a 1-2 g/dL; menos de 1000 leucócitos por mm³; uma quantidade de glicose semelhante a do plasma, um pequeno número de células mesoteliais, macrófagos, linfócitos e algumas enzimas, dentre elas, a desidrogenase láctica (DLH), inferior a 50% do valor encontrado no plasma^{2,3}.

O derrame pleural ocorre quando há um acúmulo anormal de líquido entre a pleura parietal e visceral. Várias doenças ou síndromes com diferentes mecanismos fisiopatológicos podem ter como complicação o derrame pleural²: tuberculose, câncer, pneumonia, embolia pulmonar dentre outras.

O diagnóstico etiológico da síndrome do derrame pleural (SDP) pode ser difícil de ser obtido. A biópsia pleural fechada percutânea por agulha de Cope (CNPB) realizada cegamente foi durante muito tempo considerada padrão-ouro para o diagnóstico de tuberculose pleural, câncer e pleurisia por artrite reumatóide². A toracentese realizada em conjunto com ultrassonografia transtorácica extracardíaca (ETUS) atualmente é um dos procedimentos médicos mais comuns para diagnóstico de SDP, com dosagem de vários biomarcadores apenas no líquido pleural⁴. Muitos biomarcadores são importantes para simplificar a análise, reduzir custos e aumentar a acurácia do diagnóstico em

SDP. O interferon gama, o fator de necrose tumoral alfa, as interleucinas, a adenosina desaminase, os fragmentos de citoqueratina 19 (CK19) e o antígeno carcinoembrionário (CEA) são alguns exemplos de biomarcadores diagnósticos⁵.

Vários estudos ao longo dos anos utilizaram a DLH como um teste diagnóstico para o estudo dos derrames pleurais. Inclusive, na clínica diária, a DLH é um teste de diagnóstico para diferentes abordagens em doenças pleurais. Os critérios de Light para o diagnóstico de transudados e exsudados em doenças pleurais foram definidos como DLH de líquido pleural dividido por DLH sérica maior que 0,6 e DLH de líquido pleural maior que 2/3 do que o limite normal superior para DLH sérica⁶. Maranhão e Silva Júnior, em 2010, realizaram um estudo para diferenciar exsudados e transudados apenas utilizando o líquido pleural. Os estudiosos definiram os seguintes critérios: uma dosagem de proteínas totais e DLH com pontos de corte estabelecidos em 3,4 mg / dL e 328,0 U / L, respectivamente⁷. Alsayed et al, em 2015, relataram que um alto nível de DLH ($1814,0 \pm 691,0$ U / L) no derrame pleural maligno apresentava um pior desfecho para pleurodeses⁸.

A DLH (EC 1.1.1.27) é uma enzima chave na fermentação láctica. Ela catalisa a interconversão de piruvato em lactato com uma concomitante interconversão da nicotinamida-adenina dinucleotídeo na forma reduzida ou oxidada (NADH e NAD⁺)⁹. A DLH também converte o piruvato, o produto final da glicólise em lactato, quando o oxigênio está em pequenas quantidades ou em tecidos sem mitocôndrias e realiza a reação reversa durante ciclo de Cori, com participação do fígado.

Mesmo sem função metabólica conhecida no espaço extracelular, quando presente no espaço pleural, esta enzima é importante porque atua como

um indicador sugestivo de distúrbios da integridade de membrana dos tecidos induzidos em condições patológicas ¹⁰. Apesar desta enzima ser estudada há muitos anos, existem poucos trabalhos sobre a importância da DLH como um novo biomarcador para o diagnóstico etiológico da SDP.

2. JUSTIFICATIVA

É recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio valor de referência ou limiar de reatividade para um biomarcador de diagnóstico, considerando a influência de características demográficas ou outros fatores importantes na prática clínica.

O pesquisador, conhecendo os parâmetros de padronização de testes laboratoriais para diagnósticos de doenças que surgem com frequência em sua prática diária, pode evitar que procedimentos diagnósticos invasivos sejam necessários, com risco de complicações fatais. Conseqüentemente, isso vai permitir otimizar o seu diagnóstico, reduzindo riscos para os pacientes e racionalizando custos da instituição em que trabalha, pesquisa e ensina, principalmente em patologias associadas à pleura.

Não são conhecidos a importância e os valores de referência do biomarcador DLH-P para o diagnóstico diferencial da SDP no Brasil e na literatura internacional ¹¹.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. A CAVIDADE PLEURAL

O espaço pleural é um brilhante projeto de bioengenharia para realizar duas funções: (I) manter o pulmão perfeitamente expandido no tórax e, (II) permitir um deslizamento recíproco perfeito da pleura visceral e parietal com um coeficiente de atrito muito baixo. Tudo isso é conseguido mantendo a pressão do fluido pleural na faixa subatmosférica que, em última análise, resulta do equilíbrio entre filtração e drenagem do líquido pleural¹².

O espaço pleural é delimitado pela pleura visceral envolvendo o pulmão e pela pleura parietal cobrindo a caixa torácica e as superfícies diafragmáticas. As membranas pleurais são feitas de uma camada de células mesoteliais, com uma espessura de 4 μm , conectadas entre si por junções apertadas no lado luminal e por desmossomas na parte basal subpleural. As células mesoteliais são irregularmente cobertas por microvilosidades de 1-3 μm de comprimento variando em densidade de 2 a 30/ μm^2 . Microvilosidades absorvem altas concentrações de glicoproteínas e ácido hialurônico. Nos seres humanos, a espessura da pleura visceral pode atingir até 100 μm , enquanto a pleura parietal é aproximadamente 5 vezes menor. A pleura parietal é ricamente alimentada com linfáticos, que se abrem diretamente na superfície mesotelial através dos chamados estômatos linfáticos. Os estômatos têm um diâmetro que varia de 1 a 40 μm , têm uma densidade variando de 100 estômatos/ cm^2 na superfície intercostal até 8.000/

cm² no diafragma. O mesotélio parietal da região mediastinal é tão rico em estômatos podendo ser considerado uma membrana cribriforme (focos Kampmeier). Os estômatos são frequentemente agrupados em clusters e se conectam a uma extensa rede de lacunas submesoteliais. Existe uma distribuição fractal de estômatos linfáticos na pleura parietal, uma indicação clara de que sua maior densidade em alguns lugares reflete a necessidade de uma maior capacidade de drenagem. Os vasos linfáticos da pleura visceral não se conectam diretamente com o espaço pleural e, portanto, ao contrário do linfático da pleura parietal, não estão envolvidos na drenagem do líquido pleural. Fisiologicamente, na cavidade pleural existem cerca de 3 a 15 mL de líquido pleural (0,3 ml/kg). O líquido pleural é hipo-oncótico (aproximadamente 1 g prot /dL), provando a baixa permeabilidade da pleura parietal à água e às proteínas. O “turnover” do líquido pleural é estimado em aproximadamente 0,15 mL/ Kg/ h, assegurando a renovação do líquido em torno de uma hora. O sistema linfático atua como um sistema eficiente de “feedback” negativo para regular a dinâmica dos líquidos pleurais, pois podem aumentar acentuadamente o fluxo de drenagem em resposta ao aumento da filtração^{12,13,14}.

A composição bioquímica do líquido pleural normal se assemelha ao de outros fluidos intersticiais. A concentração de pequenas moléculas (por exemplo, glicose e ureia) é similar a do soro, enquanto que a concentração de macromoléculas tais como proteína ou a LDH é menos da metade do encontrado no soro. Esse fluido é um transudato e contém principalmente macrófagos. Em um estudo de lavagem pleural em humanos, a contagem foi de 1716×10^3 leucócitos/mL. Nesses indivíduos, não fumantes, o percentual de células no

líquido pleural encontrado foi de 75% de macrófagos, 23 % de linfócitos, 1 % de células mesoteliais, e raros neutrófilos e eosinófilos^{15, 16}.

3.2. PRINCIPAIS CAUSAS DE DERRAME PLEURAL

A incidência anual de síndrome de derrame pleural nos Estados Unidos foi estimada em, no mínimo, um milhão e meio de casos^{1,17}. Não foram encontrados relatos epidemiológicos oficiais de causas de derrames pleurais no Brasil.

A literatura mundial relata que, mesmo nos dias atuais, em que o paciente é exaustivamente investigado, 11 a 20% dos casos de síndrome do derrame pleural fica a causa sem ser esclarecida¹.

O primeiro passo para o diagnóstico da causa é ter certeza se o derrame pleural é transudativo ou exsudativo^{7,18}.

Na classificação atual de derrames pleurais transudativos ou exsudativos a dosagem de desidrogenase láctica total (DLH) no líquido pleural tem importância prática. Com esta finalidade, o critério clássico de Light (1972) caracteriza como exsudato o líquido pleural que apresenta o valor de DLH no líquido pleural (DLH-L) maior do que 200 UI/L e uma relação de DLH-L/soro (DLH-S) maior do que 0,6⁶. Posteriormente, a dosagem da DLH-L acima de dois terços daquela encontrada no soro passou também a ser considerada como indicativa de exsudato¹⁹. Atualmente a classificação de transudato ou exsudato pleural também pode ser realizada pela dosagem de DLH somente no líquido pleural. O estudo de Silva Júnior et al publicado em 2010, revelou que as dosagens isoladas das proteínas Totais (Ptn-T) e DLH, exclusivamente no líquido pleural, com os pontos de corte de 3,4 mg/dL e 328,0 U/L, demonstraram-se eficazes e promissoras, já

que as acurácias calculadas para a classificação de exsudatos e transudatos pelo novo critério proposto, proporcionaram sensibilidade, especificidade e acurária de 99,4%, 72,6% e 99,2%, respectivamente⁷.

Todavia, em uma situação bem específica (indivíduos fazendo uso de terapia diurética), esses critérios podem gerar equívocos na classificação, indicando como um exsudato o que seria na realidade um transudato. Nesses casos, é mais recomendado utilizar o gradiente de albumina (albumina sérica – albumina pleural), no qual valores maiores de 1,2 g/dl são utilizados para diagnosticar um derrame transudativo¹⁹.

As principais causas de derrame transudativos são a insuficiência cardíaca congestiva e o hidrotórax devido à cirrose hepática. Entre as causas menos frequentes, citam-se: as síndromes nefróticas, os pacientes submetidos à diálise peritoneal, hipoalbuminemia, as neoplasias, a síndrome da veia cava superior, a atelectasias e o hipotireoidismo. Como causas mais raras são descritas a pericardite constrictiva, urinotórax e síndrome de Meigs como causas mais raras²⁰.

As principais causas de exsudato pleural são tuberculose, derrame pleural parapneumônico (DPP) e neoplasia. Causa menos frequentes são: lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, embolia pulmonar, pancreatite, pós-infarto do miocárdio, pós-cirurgia de revascularização miocárdia, drogas ilícitas e fármacos, exposição ao asbesto, infecções fúngicas e síndrome das unhas amarelas²¹.

3.2.1. TUBERCULOSE PLEURAL

Estima-se que entre 2 e 3 bilhões de pessoas estão infectadas com o

Mycobacterium tuberculosis (MT) em todo o mundo, dos quais 5-15% desenvolverão durante a sua vida a doença tuberculose (TB). Em 2014, houve 9,6 milhões de novos casos de tuberculose dos quais 12% tinham o vírus da imunodeficiência humana positivo (HIV). Carga viral de doença foi particularmente elevada no Sudeste Asiático e no Oeste das regiões do Pacífico (58% de todos os casos). Globalmente, uma estimativa de 3,3% dos casos novos, e, 20% dos tratados anteriormente, são resistentes a várias drogas²².

No Brasil, o maior contingente de casos de TB (20%) encontra-se no estado de São Paulo, sendo escassas as informações do perfil epidemiológico das várias expressões clínicas da TB. Dentre as formas extrapulmonares, que representam 15% do total de casos no Brasil, se destaca a TB pleural. Entretanto, quando da existência de coinfeção TB/HIV, a proporção de casos extrapulmonares atinge 20%^{23,24,25}.

A TB pleural é historicamente considerada uma manifestação primária decorrente da disseminação hematogênica ou linfática de um foco pulmonar (primoinfecção). A forma secundária, que ocorre anos após a primoinfecção, é considerada consequente à reativação de focos pulmonares que contaminam o espaço pleural²⁴.

A TB pleural continua sendo de difícil diagnóstico. Em cerca de dois terços dos casos, o diagnóstico depende da suspeita clínica juntamente com dosagens bioquímicas de líquido pleural consistentes, exsudatos predominantemente linfocíticos e exclusão de outras causas possíveis. Métodos microbiológicos para um diagnóstico de confirmação de TB pleural, que incluem esfregaços ácido-resistente (Ziehl-Neelsen), culturas em meios sólidos (Lowenstein-Jensen) e testes de reação em cadeia da polimerase de amostras de

líquido pleural ou de escarro permanecem subótimos, uma vez que são positivos em apenas uma minoria de pacientes. A cultura em meio líquido, no entanto, aumenta significativamente a sensibilidade ao encurtar a positividade em comparação com culturas sólidas. Uma série de biomarcadores de líquidos pleurais, como a adenosina desaminase (ADA), interferon- γ , proteína induzida por interferon- γ de 10 KDa (IP-10) e interleucina-27 (IL-27), demonstraram ser promissoras para o diagnóstico rápido de TB, mas apenas a ADA combina a precisão e a simplicidade necessárias para ser considerada uma ferramenta de investigação principal para decisões clínicas, particularmente em áreas com uma alta prevalência de tuberculose, como o Brasil. Nos países em que a ADA não está disponível, a biópsia pleural com a presença de granulomas caseosos é o diagnóstico padrão. As toracocenteses são frequentemente realizadas sob orientação de ultrassom para otimizar o rendimento do método e segurança do paciente²².

3.2.2. DERRAMES PLEURIS PARAPNEUMÔNICOS

O derrame pleural parapneumônico (DPP) e o empiema pleural são complicações que podem ocorrer durante a evolução de uma pneumonia ou de um abscesso pulmonar. A prevalência de DPP está descrita em cerca de 25% a 44% dos casos de pneumonias adquiridas na comunidade (PAC). A prevalência de empiema é menos comum (5 -10%)^{26, 27}.

Define-se o derrame pleural parapneumônico (DPP) como o acúmulo anormal de líquido na cavidade pleural secundário à pneumonia ou abscesso pulmonar de etiologia bacteriana (excetuando-se *Mycobacterium tuberculosis*, que configura um derrame tuberculoso). Por definição, o empiema pleural ocorre quando da presença de pus no espaço pleural, originalmente

estéril. Procedimentos diagnósticos sobre o espaço pleural, cirurgia torácica prévia, extensão de abscesso subfrênico, ruptura de esôfago, entre outros, também podem ser causas de derrame pleurais associados à infecção²⁸. Contudo a etiologia parapneumônica é a mais frequente, correspondendo a cerca de 50% dos casos. Trata-se de uma patologia altamente prevalente, visto que aproximadamente 20% de todos os pacientes portadores de pneumonia desenvolverão um DPP, resultando em cerca de 1 milhão de acometidos anualmente nos EUA, com uma taxa geral de mortalidade de 15%, que se acentua nos extremos de vida, chegando a 75% em maiores de 70 anos e 28% nos menores de 12 anos. Ademais, cerca de 40 a 60% das pneumonias mais graves e que cursam com internação hospitalar também apresentarão DPP, contribuindo para que sua presença influencie a mortalidade de pacientes com pneumonia, elevando-a cerca de 6,5 vezes em derrames bilaterais e 3,5 vezes em unilaterais²⁸.

O completo processo de desenvolvimento do derrame pleural parapneumônico perdura de 5 a 6 semanas e desenvolve-se segundo três fases clínicas que constituem um espectro contínuo. A primeira, denominada fase exsudativa ou DPP simples ou não complicado (DPPN), é caracterizada pelo acúmulo de líquido estéril no espaço pleural devido ao aumento do fluxo proveniente do parênquima pulmonar e da permeabilidade capilar elevada nas pleuras visceral e parietal. Sua duração compreende de 1 a 2 semanas após o início do quadro pneumônico. A segunda fase, denominada fibrino-purulenta ou DPP complicado, ocorre em resposta à invasão bacteriana via extravasamento capilar e tecido danificado, podendo perdurar por 1 a 6 semanas após o início do quadro. Em razão da lesão inflamatória, o equilíbrio fibrótico do espaço pleural é alterado, havendo a formação de coágulos de fibrina e septos fibrosos, que geram a loculação desse espaço. Por fim, na terceira fase ou de organização, ocorre deposição de tecido fibroso na superfície interior das membranas pleurais, levando ao típico espessamento pleural. Isto gera o encarceramento pulmonar, uma vez que a expansão do pulmão torna-se prejudicada, acarretando redução de hematose e potencial infecção crônica. Esta fase inicia-se geralmente após cinco ou seis semanas após a instalação da pneumonia^{28,29}.

Algumas características do líquido pleural são indicativas de drenagem pleural: presença de pus, esfregaços bacterianos positivos, níveis de glicose menores do que 40 mg/dL, cultura bacteriana positiva, pH inferior a 7,2, septações

ou loculações pela ultra-sonografia transtorácica extracardiaca (ETUS) e DLH superior a 1000 U / L ^{2, 30,31}.

O tratamento do DPPC é sempre cirúrgico, e o tipo de drenagem depende da fase em que se encontra o derrame: na fase aguda, é indicada a drenagem torácica fechada; na fase fibrinopurulenta, a remoção do conteúdo pleural através de minitoracotomia ou toracoscopia, com posterior drenagem pleural fechada; e na fase organizada, toracotomia ou drenagem aberta através de pleurostomia²⁸.

O fator crítico no prognóstico do DPP é o intervalo entre o início do quadro e a instituição do tratamento adequado. Até o início da década de 90, o desbridamento cirúrgico por toracoscopia era indicado após um período de drenagem simples (DS), se não houvesse melhora clínica. Atualmente, há evidências baseadas em estudos retrospectivos³², prospectivos³³, revisões sistemáticas ³⁴ e de uma meta-análise, ³⁵ mostrando a superioridade da toracoscopia em relação à DS no tratamento do empiema pleural, indicando a realização da toracoscopia, especialmente quando a ultrassonografia mostra septações ou loculações ^{36,37}.

3.2.3. DERRAME PLEURAL MALIGNO

Carcinomas brônquicos, com maior frequência os adenocarcinomas, linfomas e carcinoma de mama constituem 75% das causas de derrame pleural maligno (DPM)³⁸.

A qualidade de vida desses pacientes é usualmente comprometida por causa dos sintomas como tosse, dispnéia e dor torácica³⁹.

O derrame pleural maligno é frequentemente o primeiro sinal de câncer e é

um fator prognóstico em pacientes com doença avançada. O derrame pleural maligno pode ser uma complicação de uma doença maligna e em pacientes com câncer de pulmão, a frequência está em torno de 7 a 23 %. Derrame pleural maligno é característico de doença avançada, mas pode também aparecer em doenças com sobrevida longa (como nos linfomas, incluindo Doença de Hodgkin`s, e câncer de mama).

3.2.4. TRANSUDATOS

Dentre as causas de transudato citadas anteriormente, sem sombra de dúvida, a mais frequente é a insuficiência cardíaca (IC)⁴⁰.

Os derrames relacionados com insuficiência cardíaca devem ser suspeitados em qualquer paciente com dispnéia, e uma ou mais das seguintes características: história anterior de IC, dispnéia paroxística noturna, ortopnéia, ritmo em galope B3, turgência jugular, teste abdominal-jugular positivo, impulso apical deslocado, cardiomegalia na radiografia de tórax, inversão da trama vascular com edema intersticial ou alveolar. Um achado útil para excluir insuficiência cardíaca é quando peptídeo natriurético do tipo B (BNP) é inferior do que 100 pg / mL⁴⁰.

Em pacientes com insuficiência cardíaca descompensada aguda clinicamente evidente, uma toracocentese é desnecessária. No entanto, uma toracocentese é indicada se alguma das seguintes características estiver presente: dor torácica, febre, derrames pleurais unilaterais (particularmente se do lado esquerdo), derrames pleurais bilaterais de tamanhos diferentes, ausência de cardiomegalia em radiografias de tórax ou sem resposta a diuréticos. Quando

aspirado, o líquido pleural é geralmente amarelado ou seroso, embora a aparência também possa ser aquosa (<15%) ou mesmo sanguinolenta (15%)⁴⁰.

3.3. DIAGNÓSTICO DO DERRAME PLEURAL

O derrame pleural é uma síndrome clínica que pode acompanhar diversas doenças, quer sejam secundárias às lesões do parênquima pulmonar ou a enfermidades sistêmicas.

Não há uma estimativa segura sobre a sua incidência na população, e a causa é muito variável, dependendo da prevalência das doenças na região estudada.

O diagnóstico da síndrome de derrame pleural é realizado pela análise do quadro clínico (anamnese e exame físico), por imagem (convencional ou especializada)¹.

A SDP pode ter como causas diversas doenças torácicas ou extratorácicas. Para o diagnóstico da causa da SDP podem ser necessários os procedimentos de toracocentese, biópsia pleural fechada com agulha de Cope (CNPB), pleuroscopia, cirurgia assistida por vídeo-toracoscopia (VATS) e/ou toracotomia. A partir desses procedimentos, diversos materiais como líquido pleural, pleura ou parênquima pulmonar são obtidos para exames específicos e confirmação do diagnóstico da causa da SDP⁴¹.

3.3.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Os sintomas determinados pelo acúmulo de líquido no espaço pleural

dependem de múltiplos fatores, devendo-se salientar: o volume e a velocidade de formação do derrame; a reserva cardiopulmonar do paciente; a existência ou não de processo inflamatório (o grau e tipo de inflamação); a distensibilidade da caixa torácica e do parênquima; e o tipo e a extensão da doença primária.

A tríade mais frequentemente observada é dor torácica, tosse seca e dispneia. A dor torácica costuma ser ventilatório dependente, bem localizada, em pontada e de moderada intensidade. A tosse seca é causada por estímulos inflamatórios na pleura parietal e pelo colapso das paredes dos brônquios adjacentes ao derrame. A dispnéia é multifatorial, ela está mais relacionada com o tempo do aparecimento e a velocidade do acúmulo do derrame do que propriamente com o seu volume. Os demais sintomas dependerão da doença de base que o paciente apresente.

As alterações no exame físico são notadas a partir da existência de 300 ml de líquido na cavidade pleural. A taquipneia pode estar presente nos derrames volumosos, mas a respiração pode ser superficial e ter maior frequência, devido apenas à dor. A expansibilidade está em geral diminuída do lado do derrame, bem como o frêmito toracovocal. Na percussão, observa-se presença de macicez, o que possibilita delimitar ao exame físico a área do derrame. Na ausculta, além do murmúrio vesicular diminuído ou abolido, podem ser notados atrito pleural, sopro pleurítico e egofonia²¹.

3.3.2.EXAMES DE IMAGEM

A avaliação inicial do derrame pleural é inicialmente feita pela radiografia de Tórax em PA, perfil e em decúbito lateral com raios horizontais, por ser um exame de simples realização, bastante disponível e de baixo custo²¹.

A ETUS difundiu-se nos últimos anos, pelo fácil manuseio, pela portabilidade e pelo baixo custo. É um método de grande valia tanto para o diagnóstico quanto para auxílio em procedimentos invasivos. As principais peculiaridades do método ultrassonográfico são: é um método não invasivo ou minimamente invasivo; as imagens seccionais podem ser obtidas em qualquer orientação espacial; não apresenta efeitos nocivos significativos dentro do uso diagnóstico; não utiliza radiação ionizante; possibilita o estudo não invasivo da hemodinâmica corporal através do efeito Doppler; e a aquisição de imagens é realizada praticamente em tempo real, permitindo o estudo do movimento de estruturas corporais. O ETUS pode detectar volumes de líquidos tão pequenos quanto 5 ml entre os folhetos pleurais, enquanto que, em uma radiografia de tórax (em incidência pósterio anterior), são necessários aproximadamente 150ml de líquido para que haja alteração significativa no exame^{4, 42}. Tornou-se ferramenta quase obrigatória na realização da toracocentese, principalmente em derrames pleurais pequenos, além de indicar a presença de fibrina ou debris, sinais compatíveis com derrame pleural complicado ou loculado.

A tomografia computadorizada (TC) de tórax tem melhor resolução e contraste do que a radiografia convencional. E, por não se tratar de uma técnica na qual as diversas estruturas se sobrepõem no mesmo plano, possibilita diferenciar o derrame pleural de lesões sólidas pleurais e de doenças pulmonares. O aspecto tomográfico de transudatos e exsudatos é muito semelhante, mas os derrames quilosos podem apresentar valores de atenuação mais elevados. O

empiema apresenta uma característica mais marcante, como o realce ao uso de contraste, o espessamento pleural e o borramento da gordura extrapleural⁴³.

A ressonância magnética (RM) e a tomografia por emissão de pósitrons (PET-CT) não são rotineiramente realizadas na avaliação da doença pleural. São mais realizadas em situações específicas, como tumor fibroso solitário da pleura. Entretanto, na PET-CT algumas lesões inflamatórias (infecção por micobactéria e fungos) aumentam a captação de F18- fluordesoxiglicose (FDG) tanto quanto as neoplasias, fazendo com que os resultados necessitem ser analisados criteriosamente nos países com alta prevalência de tuberculose e aspergilose²¹.

3.3.3. TORACOCENTESE

A toracocentese deve ser realizada em ambiente hospitalar, mas não necessariamente em centro cirúrgico pelo procedimento de toracocentese. É feita com agulha de calibre 16, após tricotomia (quando indicado), antissepsia ampla da pele do hemitórax com éter e posteriormente álcool iodado, anestesia local da pele, subcutâneo, periósteo da costela adjacente, músculos intercostais, nervos intercostais e pleura parietal, no local determinado por campos esterilizados. O local para a toracocentese é na interseção de uma linha horizontal, passando pela base do apêndice xifoide, com uma linha vertical passando pela linha axilar média ou linha axilar posterior ou linha paravertebral do hemitórax correspondente ao derrame pleural, com o paciente sentado na mesa cirúrgica⁴⁴.

A cor e o odor do líquido pleural (LP) são importantes. Um LP transparente ou de cor amarelo citrino evidencia um possível transudato, mas não pode excluir um exsudato paucicelular. Se o DP é hemorrágico ou sero-

sanguinolento e não há uma história de trauma, deve-se pensar em neoplasia e mais raramente em asbestose, síndrome de Dressler ou infarto pulmonar. Um hemotórax geralmente é devido ao trauma penetrante, um procedimento invasivo, anticoagulação com um infarto pulmonar hemorrágico ou hemotórax catamenial. Um LP de aspecto leitoso pode corresponder a um quilotórax, um pseudoquilotórax ou um empiema. Ao centrifugar, o sobrenadante fica claro no último e permanece leitoso no primeiro. Um LP amarelo-esverdeado indica um derrame pleural reumatóide e, se de cor esverdeada, uma fístula biliopleural. Se um cateter venoso migra de forma extravascular para o mediastino e rompe a pleura parietal, o líquido pleural terá uma aparência similar a do líquido infundido. Se o LP for pus, o diagnóstico é empiema, e se o cheiro é pútrido, é muito provável que a infecção seja anaeróbica. Se o LP vem com detritos pode sugerir um derrame pleural reumatóide. Caso o cheiro seja de amônia, devemos descartar um urinotórax⁴⁵.

3.3.4. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Os exames solicitados estão intimamente relacionados com a hipótese diagnóstica.

Os exames bioquímicos colhidos no soro de rotina são: glicose, desidrogenase láctica (DLH), proteínas totais e albumina. Esses exames estão incluídos no pleurograma convencional, porque fazem parte de critérios bioquímicos para classificar líquido pleural transudativo ou exsudativo¹.

Os exames colhidos no líquido pleural são:

- a) **Exames bioquímicos:** os mesmos que são realizados no soro, que devem ser simultaneamente coletados. Todos coletados em frasco seco, estéril e sem anticoagulante. Recomenda-se o encaminhamento imediato da amostra ao laboratório. Se, eventualmente, o material não puder ser enviado logo após a coleta, sugere-se que seja mantido em geladeira comum (4 a 8°C), e não no congelador, até o encaminhamento ao laboratório, que deve ser o mais precocemente possível. Cabe lembrar que a maioria dos analitos bioquímicos dosados no líquido pleural é estável se mantidos em geladeira por até 96 horas, exceção feita à glicose e DLH, esta última por apresentar uma isoforma termolábil, portanto, com decaimento se mantida refrigerada ou congelada^{1, 38}. A adenosina desaminase útil, no diagnóstico de tuberculose pleural, pode ser realizada no sobrenadante de líquido coletado em tubo com anticoagulante ou, em tubo seco com gel separador. A ADA total maior ou igual a 40 UI/L, dosada no líquido pleural pelo método colorimétrico *in house*, de Giusti e Galanti, confirma o diagnóstico de TB pleural^{46,47,48,49}.
- b) **Leucometria:** contagem global e diferencial deve ser realizada em tubo com anticoagulante, de preferência EDTA.
- c) **Exames de microbiologia:** exame direto para pesquisa de BAAR, cultura de micobactérias, exame direto para fungos e cultura, coloração pelo método de gram e cultura para bactérias comuns. O líquido pleural destinado à análise microbiológica deve ser coletado em tubo estéril e, se possível, também em um tubo de hemocultura e encaminhado para o setor em um tempo inferior a 2 horas²¹.
- d) **Citopatologia convencional: identificação de células neoplásicas e mesoteliais.** Para análise citológica (citologia diferencial e oncótica), podem-se coletar 15 mL de líquido pleural em tubos contendo o anticoagulante EDTA- ácido etileno- diamino tetracético, o mesmo utilizado para hemograma. É importante salientar que vários métodos podem ser utilizados na análise citológica, sendo

importante conferir com o setor de citopatologia qual a melhor maneira de armazenar a amostra.

e) **Marcadores tumorais:** No pleurograma convencional, podem ser dosados também marcadores tumorais como o antígeno carcinoembrionário (CEA) e a enolase neurônio-específica (NSE), Cyfra 21-1, entre outros.

f) **Exames especiais:**

O exame de pH deve ser coletado em seringa com heparina, acondicionado em caixas refrigeradas e mensurados em aparelho de gasometria. Pode ser acrescentado colesterol, triglicerídeos, amilase, BNP e outros dependendo da suspeita clínica.

Dependendo de protocolos de pesquisa para síndrome do derrame pleural, marcadores imunológicos podem ser dosados para colagenoses como proteína C-reativa, látex, fator antinúcleo (FAN), reação em cadeia da polimerase (PCR) para *Mycobacterium tuberculosis*, lipase, interferon- γ , fator alfa de necrose tumoral e interleucinas²¹.

3.3.5. A ENZIMA DESIDROGENASE LÁTICA

Desidrogenase lática (DLH) é uma enzima citoplasmática presente na maioria dos sistemas orgânicos. A DLH extracelular é usada para detectar dano ou morte da célula, pois enzimas celulares, no espaço extracelular, embora tendo pouca função nesse espaço, são ainda benéficas, pois elas servem como indicadores de distúrbios da integridade celular induzida por condições patológicas. Devido à sua extraordinária distribuição generalizada por todo o corpo, a DLH sérica está anormal em muitas desordens. A enzima é lançada no sangue periférico após a morte celular por isquemia, excesso de calor ou frio, fome, desidratação, ferimentos, exposição à toxinas bacterianas, após ingestão

de certas drogas, intoxicações químicas. Contudo, a DLH sérica total é altamente sensível, porém não específica¹⁰.

A DLH, código: 1.1.1.27, de acordo com a nomenclatura divulgada por *International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB)*, é uma enzima da classe das oxidoredutases que catalisa a redução do ácido pirúvico a ácido láctico em presença da coenzima NAD⁺ que atua como doador ou acceptor de hidrogênio. Assim, a DLH é essencial nos processos metabólicos que, em última análise, produzem a energia celular. A DLH total está presente no citoplasma de todas as células do organismo. Os níveis teciduais de DLH são, aproximadamente, 500 vezes maiores do que os encontrados no soro e, lesões teciduais provocam elevações plasmáticas significantes desta enzima. Existem dois monómeros: H e M que podem combinar-se em diferentes proporções originando cinco isoenzimas específicas teciduais que diferem ligeiramente nas suas estruturas, podendo ser dosadas no soro e identificadas ou separadas por eletroforese: a DLH₁ (H₄) que surge no soro de doenças cardíacas e hematológicas; a DLH₂ (H₃M) que aparece, primariamente, nos leucócitos; a DLH₃ (H₂M₂) que é encontrada, primariamente, nos pulmões; a DLH₄ (HM₃) que surge extracelularmente nos rins, placenta e pâncreas; e a DLH₅ (M₄) que é encontrada no fígado e músculos esqueléticos⁵⁰.

O papel das enzimas glicolíticas no diagnóstico e manejo do câncer remonta pelo menos desde 1920, quando Otto Heinrich Warburg, cientista alemão relatou uma maior taxa de glicólise aeróbica em tecido cancerígeno do que o tecido normal. Nos anos 50 e 60, a DLH foi estudada extensivamente em soro de pacientes com câncer, mas não foi demonstrada uma utilidade real.

Historicamente, a medida de DLH foi considerada um teste não confiável como marcador de câncer. A DLH₁, DLH₂ e DLH₃ podem ser marcadores importantes em discrasias hematológicas e outras malignidades. No entanto, a interpretação dos valores de isoenzimas deve ser feita com a compreensão de que os leucócitos, plaquetas e reticulócitos contêm grandes quantidades das mesmas, portanto, tornando-as marcadores tumorais inespecíficas^{10, 51,52}.

Em razão de a DLH estar presente em quase todos os tecidos corpóreos e, a lesão celular fazer com que, a DLH sérica total se eleve, a avaliação quantitativa de DLH tem valor diagnóstico limitado (especificidade baixa) quando dosada somente no soro. Trabalhos nacionais e internacionais concluíram que a análise das frações da DLH não foi útil como biomarcador de neoplasia^{10,53,54,55}. Porém, a utilidade diagnóstica da medida dessas isoenzimas reside no fato de que as alterações em suas atividades fornecem indicadores sensíveis de lesão, proliferação ou morte celular. Estas modificações ajudam a detectar e, em alguns casos, localizar a lesão tecidual, monitorar o tratamento e a progressão da doença¹⁰. Com base em novas técnicas de biologia molecular, foi demonstrado que as características intracelulares da DLH são indicadores muito sensíveis do estado metabólico celular, direção aeróbica ou anaeróbica da glicólise, estado de ativação e transformação maligna^{50,51,52}.

A dosagem da enzima DLH total como biomarcador pleural para o diagnóstico diferencial das causas principais de síndrome do derrame pleural não vem sendo pesquisada nos últimos anos⁴⁶. Biomarcadores são definidos como características biológicas, que podem ser efetivamente medidas e avaliadas como

indicadores de processos biológicos normais, patogênicos ou devido à resposta farmacológica resultante de intervenção terapêutica^{56,57,58}.

A utilidade da dosagem de DLH total pleural como biomarcador para o diagnóstico diferencial da SDP não está estabelecida na prática clínica⁵⁹. Cabe lembrar que a determinação da atividade enzimática no soro e líquidos orgânicos pode fornecer informações para o diagnóstico em relação ao local e extensão da lesão. Não existem trabalhos sobre valores de referência determinados no líquido pleural considerando o sexo e idade dos pacientes no Brasil⁵⁹.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

O objetivo principal deste estudo foi determinar o valor da DLH total do líquido pleural (DLH-P) para o diagnóstico etiológico da síndrome do derrame pleural.

4.2. Secundários

- Calcular um valor de referência da DLH no líquido pleural (DLH-P) na casuística do estudo, considerando a influência dos sexos masculino e feminino e, da idade dos pacientes, para o diagnóstico diferencial das causas do derrame pleural;
- Calcular os parâmetros diagnósticos de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, valores de verossimilhança e acurácia da DLH-P para o valor de referência estipulado considerando a influência dos sexos masculino e feminino e a idade dos pacientes para a causa de síndrome do derrame pleural importante no diagnóstico diferencial.

5. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo prospectivo de precisão diagnóstica realizada entre março de 2002 e junho de 2017, envolvendo pacientes submetidos à toracentese e biópsia pleural em um centro de referência terciária, a saber, Centro de Ensino e Pesquisa em Pleurologia na Universidade Federal Fluminense (UFF), localizado no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Para evitar possíveis vieses neste estudo de teste de diagnóstico, aplicamos os critérios metodológicos recomendados pelo Instituto de Padrões Clínicos e de Laboratório e os Padrões para Relatórios de Precisão de Diagnóstico⁶⁰.

Foram recrutados 456 pacientes com SDP, destes 174 foram incluídos no estudo. Anamnese e exame físico detalhado dos pacientes foram realizados no ambulatório de Pleurologia do Hospital Universitário Antonio Pedro (HUAP). Os exames de radiografias, ETUS, TC e RM foram realizados no Serviço de Radiologia do HUAP. Os exames complementares especializados no Serviço de Patologia Clínica e Serviço de Anatomia Patológica do HUAP e laboratório de pesquisa em líquido pleural (Instituto de Biologia da UFF), conforme mostrado no Fluxograma da Figura 1.

A população-alvo foi adultos, de zona urbana, da cidade de Niterói e região metropolitana do Rio de Janeiro, com o diagnóstico de SDP e necessitando diagnóstico causal e tratamento ambulatorial.

O estudo foi submetido ao Comitê de ética do HUAP/UFF sendo aprovado com parecer do CEP/HUAP com o número 80/02 (em anexo) e não contou com apoio financeiro de agências de fomento.

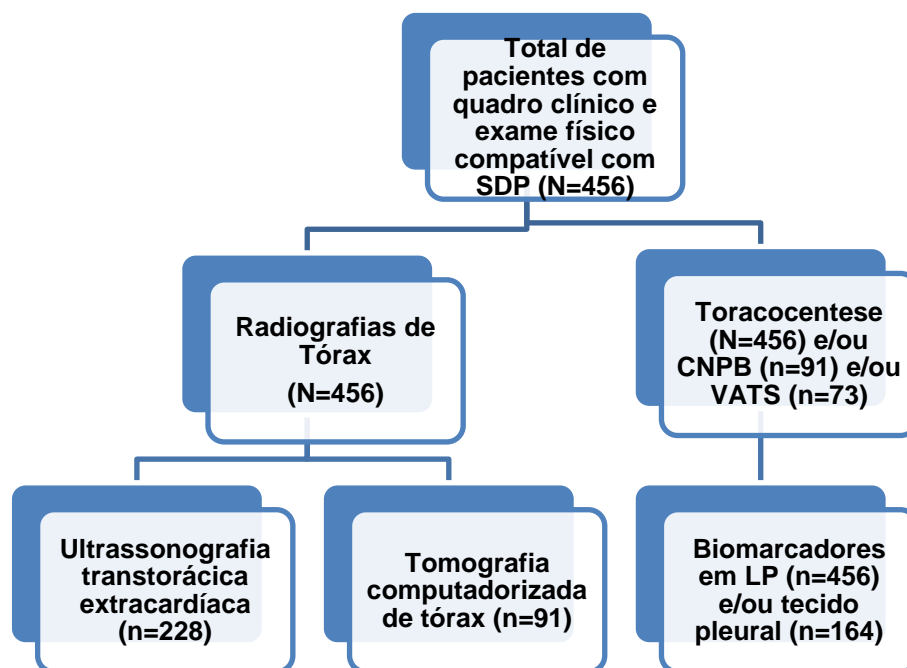


Figura 1. Fluxograma da casuística e relações hierárquicas que se desenvolveram de cima para baixa em um roteiro dos exames e procedimentos nos 456 pacientes com SDP em um estudo prospectivo realizado no Ambulatório de Pesquisa em Pleurologia do Hospital Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense, período de 2002 a 2017. Abreviaturas: SDP, síndrome do derrame pleural; CNPB, biópsia pleural fechada com agulha tipo Cope; VATS, cirurgia torácica vídeo-assistida; LP, líquido pleural.

5.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Todos os pacientes que compareceram ao Ambulatório de Pesquisa em Pleurologia, com quadro clínico e de imagem compatível com derrame pleural e, que quando confirmado o diagnóstico sintromico de derrame pleural, concordaram em ser submetidos a procedimentos e exames mínimos necessários para o diagnóstico da causa da síndrome existente.

5.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos 282 indivíduos do total de 456 pacientes, conforme o fluxograma da Figura 2. Os critérios de exclusão incluíram pacientes que tinham

hemólise em líquidos pleurais, insuficiência renal crônica, infecção pelo HIV e derrame pleural de causa desconhecida, apesar de exaustivamente investigado.

Além disso, pacientes que estavam em uso de medicamentos como: anticoagulantes, trombolíticos, imunossupressores, anestésicos, vitamina C, aspirina, clofibrato, fluoretos, mitramicina, narcóticos e procainamida; ou outras condições que interferissem nas medições da LDH como exercícios extenuantes, gravidez, plaquetometria elevada e cirurgias recentes também foram excluídos ⁶¹.

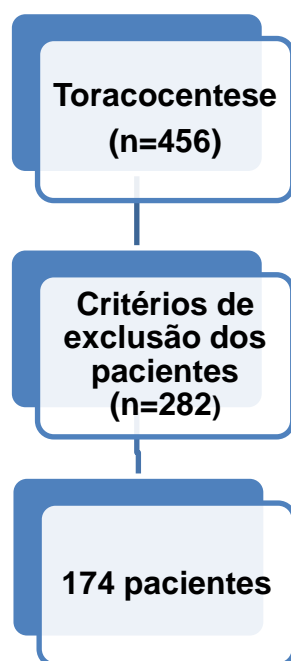


Figura 2. Fluxograma com critérios de exclusão dos pacientes para dosagens do biomarcador desidrogenase láctica total em um estudo prospectivo realizado no Ambulatório de Pesquisa em Pleurologia do Hospital Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense, no período de 2002 a 2017.

5.3. ABORDAGEM DOS PACIENTES COM SINDROME DE DERRAME PLEURAL

O diagnóstico da causa do SDP foi confirmado com exames padrão e o uso de procedimentos cirúrgicos apropriados ^{4,5,62}.

Quando o diagnóstico da causa da síndrome de derrame pleural não era confirmado após a toracentese com realização de avaliações laboratoriais no líquido pleural, outros procedimentos cirúrgicos eram realizados, como por exemplo, uma biópsia pleural fechada pecutânea usando a agulha de Cope. Caso os sintomas persistissem e não conseguíssemos diferenciar o derrame pleural em benigno ou maligno, o paciente era encaminhado para a realização de cirurgia toracoscópica vídeo assistida^{4,5,62}.

O critério do Maranhão e Silva Júnior foi realizado para classificar o transudato pleural ou o exsudato. As dosagens isoladas das Ptn-T e DHL, exclusivamente no líquido pleural, com os pontos de corte de 3,4 mg/dL e 328,0 U/L, demonstraram-se eficazes e promissoras⁷.

O diagnóstico de derrame pleural tuberculoso foi confirmado após apresentação clínica e demonstração de bacilos no líquido pleural, espécime de biópsia pleural com granulomas na pleura, sem evidência de outras doenças granulomatosas. Cultura de micobactérias no líquido pleural, leucograma sugestivo e avaliação quantitativa sugestiva de células mesoteliais no líquido pleural. Exames especiais foram realizados em casos inconclusivos: PCR para *M. tuberculosis*, cultura dos fragmentos de pleura parietal ou testes imunológicos para Micobactérias⁶³. O derrame pleural foi diagnosticado como “maligno” quando confirmado com citologia positiva ou biópsia pleural conclusiva. O derrame parapneumônico não complicado (DPNC) foi definido como um derrame pleural secundário a pneumonia, abscesso pulmonar ou bronquiectasia e cujo o paciente foi curado com terapia antibiótica isolada. Um derrame pleural parapneumônico complicado (DPPC) foi definido como um líquido pleural não purulento que precisava ser rapidamente drenado para evitar a evolução para um

empiema pleural. O empiema foi definido como o pus no espaço pleural ou qualquer fluido pleural que era grosseiramente purulento com GRAM ou cultura positiva, ou loculações de pus, e na presença de líquido pleural com pH ácido associado com níveis baixos de glicose. Pacientes com lúpus eritematoso sistêmico pleural (LES) foram diagnosticados quando tiveram manifestações clínicas, biomarcadores séricos positivos e biópsia pleural com imunofluorescência combinada com microscopia eletrônica. O diagnóstico de paracoccidiodomicose pleural foi realizado em paciente com manifestações clínicas compatíveis, perfil epidemiológico adequado, estudos de imagem e biópsia conclusiva de mucosa oral. O diagnóstico de linfoma foi confirmado através do exame de histopatologia, convencional e especializado, em gânglios cervicais ou de mediastino, e, se necessário, citometria de fluxo no líquido pleural⁶⁴. O diagnóstico de tromboembolismo pulmonar e infarto pulmonar foi confirmado através da dosagem de d-dímeros e fibrinogênio no líquido pleural.

5.4 ENSAIO DLH

O método DLH foi padronizado de acordo com a Federação Internacional de Química Clínica (IFCC)⁶⁵. Os níveis de DLH foram medidos em soros (DLH-S) e em líquidos pleurais (DLH-P) de todos os pacientes com SDP. Nas condições do ensaio, a DLH catalisa a conversão do piruvato para lactato, enquanto o NADH é oxidado para NAD⁺. A atividade catalítica é determinada a partir da velocidade de desaparecimento do NADH que é proporcional à atividade de DLH na amostra analisada. A determinação espectrofotométrica da DLH foi realizada por método automatizado a 340 nm em aparelho Siemens® RxL Dimension. As amostras com

hemólise foram rejeitadas porque a lise das hemácias produzida durante a coleta ou a separação tardia do soro ocasiona resultados elevados, devido à alta concentração de DLH 1 e 2 nas hemácias e também aquelas que apresentavam triglicérides > 1000 mg/dL e bilirrubina > 20 mg/dL porque poderiam levar a falsos resultados elevados. No kit de referência utilizado, os valores de DLH no soro são 135-240 U / L para adultos, 120-300 U / L para 2-15 anos e 240-600 U / L para recém-nascidos. A DLH foi quantificada imediatamente em fluidos pleurais.

5.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para este estudo, o tamanho mínimo da amostra foi estimado em 120 indivíduos pelo *Internacional Federation of Clinical Chemistry (IFCC)*, porque é reconhecido como um número razoável de pacientes para cálculo de parâmetros diagnósticos de testes não paramétricos.

Foram analisadas as estatísticas descritivas e inferenciais em todos os dados usando as avaliações inseridas no Microsoft Office Excel 2013® e exportadas para os bancos de dados de NCSS 11 Statistical Software (2016). NCSS, LLC. Kaysville, Utah, EUA ou MedCalc para Windows versão 16.4.3 (MedCalc Software, Ostend, Bélgica). Um valor de P (bicaudal) inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo para rejeitar a hipótese nula e definir um erro de tipo I. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis contínuas^{67,68,69}. As variáveis quantitativas com distribuição normal foram expressas como média e desvio padrão (SD) e com distribuição não normal foram expressas como medianas e intervalo interquartil (IQR). Variáveis qualitativas ou categóricas foram expressas como proporções. As diferenças nas

medias de DLH-S e DLH-P foram analisadas utilizando o teste U de Mann-Whitney (teste Wilcoxon rank-sum) para amostras independentes. É uma alternativa não-paramétrica à t-test. O teste de Kruskal-Wallis e, quando apropriado, seguido de um teste *post hoc* Dunn foram utilizados para comparar as medias dos resultados de DLH em soros e fluidos pleurais. É um teste não-paramétrico proposto por Kruskal e Wallis em 1952 e é usado quando os dados não satisfazem a propriedade de normalidade e contém *outliers*. O coeficiente de correlação de classificação de Spearman foi usado para identificar a força de uma relação entre os níveis de DLH-P e variáveis especificadas (idade e sexo) para uma amostra completa de empiema e DPPC.

Para os limites de decisão médica, o melhor valor de corte da DLH-P para o diagnóstico de empiema e DPPC foi selecionado pelo critério da maior área sob a curva ROC⁶⁰. O critério para determinar o ponto limite ótimo dos níveis de DLH-P identificados pela curva ROC foi o valor mais alto para a área sob a curva ROC⁶⁶. A área sob a curva ROC (estatística AUC Z) com intervalos de confiança de 95% (IC 95%) foi calculada usando uma abordagem não paramétrica. Os resultados obtidos a partir do empiema e DPPC e outras doenças (grupo controle) na curva ROC para o teste DLH-P foram sensibilidade, especificidade, valores preditivos, razão de verossimilhança e razão de chance do diagnóstico^{60,70}. O teste de Grubb foi realizado para verificar se apenas os maiores valores dos níveis de DLH- P tinham valores significativos muito elevados para influenciar o ponto de corte na curva ROC.

6. RESULTADOS

Os resultados apresentados foram obtidos a partir de 308 dosagens de DLH total em soros (n = 137) e fluidos pleurais (n = 171) de um total de 174

pacientes abordados conforme mostrado no Fluxograma da Figura 3.

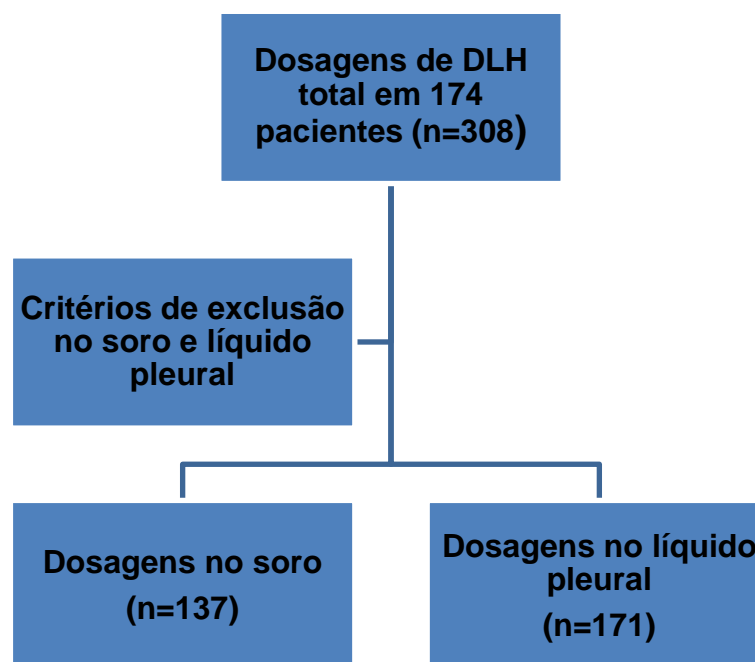


Figura 3. Fluxograma com organograma usado para mostrar informações hierárquicas para dosagens de desidrogenase láctica total em 174 pacientes após critérios de exclusão de dosagens do biomarcador no soro e líquido pleural em um estudo prospectivo realizado no Ambulatório de Pesquisa em Pleurologia do Hospital Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense, no período de 2002 a 2017.

6.1. CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES

As características demográficas e as causas dos 174 pacientes com SDP avaliados encontram-se na tabela 1. A prevalência maior foi de tuberculose pleural com 76 casos, com a média de idade de $41,26 \pm 15,85$ anos. Os pacientes com transudatos apresentaram a maior média de idade, estando em torno de $61,64 \pm 12,02$ anos. Com relação ao gênero, a tuberculose pleural foi a responsável pelo maior número de casos em homens (79%). Uma distribuição normal determinada, a partir do teste de Shapiro-Wilk, foi aceita para todo o grupo de idade das causas de SDP ($P > 0,05$).

Foram estudados 22 casos de DP por transudato, 20 casos de empiema,

19 casos de DP por adenocarcinoma, 15 casos de derrame pleural parapneumônico não complicado, 11 casos de derrame pleural parapneumônico complicado e 11 casos de derrame pleural causado por outras doenças, como: 3 casos de linfoma, 2 casos de carcinoma de pulmão de células escamosas, 2 casos de lúpus eritematoso sistêmico, 2 casos de embolia pulmonar, 1 caso de paracoccidiodomicose e 1 caso de carcinoma de pequenas células. Todos tiveram uma predominância do sexo masculino, exceto o grupo do derrame pleural causado por adenocarcinoma e outras doenças (Tabela 1).

Tabela 1. Características demográficas e causas de síndrome de derrame pleural em 174 pacientes

Doenças	Pacientes (n)	Idade – anos Média ± DP (Intervalo)	Sexo masculino (n/%)	Sexo feminino (n/%)
Tuberculose	76	41,26±15,85 (13,0-80,0)	60 (79,0)	16 (21,0)
Transudato	22	61,64±12,02 (36,0-83,0)	14 (67,0)	8 (36,0)
Empiema	20	46,30±18,40 (9,0-77,0)	13 (65,0)	7 (35,0)
Adenocarcinoma	19	59,05±8,83 (35,0-72,0)	9 (47,0)	10 (53,0)
DPP não Complicado	15	36,47±21,61 (12,0-80,0)	8 (53,0)	7 (47,0)
DPP Complicado	11	52,18±25,2 (14,0-85,0)	8 (73,0)	3 (27,0)
Outras Doenças	11	45,09±21,32 (18,0-80,0)	4 (36,0)	7 (64,0)

Abreviações: DP, Desvio padrão; DPP, Derrame pleural parapneumônico; TB, Tuberculose.

Teste de normalidade Shapiro-Wilk ($P > 0,05$ para todos os grupos).

Outras doenças: Linfomas (n=3), carcinoma de pulmão de células escamosas (n=2), lúpus eritematoso sistêmico (n=2), embolia pulmonar (n=2), paracoccidiodomicose (n=1), e carcinoma de pequenas células (n=1).

6.2. AVALIAÇÃO DA DESIDROGENASE LÁTICA NO SORO E NO LÍQUIDO PLEURAL

Utilizou-se o Teste estatístico de aderência à normalidade Shapiro-Wilk tanto para as dosagens da DLH do soro e do líquido pleural, com um resultado de $P < 0,05$, aceitando uma distribuição não normal dos dados, rejeitando-se a hipótese nula (H_0 ou erro tipo 1). Conseqüentemente, neste teste utilizou-se a mediana com intervalo interquartil dos dados. A análise quantitativa da desidrogenase lática nos soros e líquidos pleurais dos 174 pacientes encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2. Avaliação quantitativa da desidrogenase láctica (LDH) nos soros (DLH-S) e líquidos pleurais (DLH-P) em 174 pacientes com síndrome de derrame pleural

Diagnóstico	DLH-S – U/L Mediana n (IQR) *	DLH-P – U/L Mediana n (IQR) †	Teste de Mann- Whitney U (P-valor)
Tuberculose	329,0 63 (272,0-408,0)	492,0 74 (392,3-674,0)	U=1001,00 (P<0,0001)
Transudato	453,5 22 (244,3-572,5)	176,0 22 (118,8-262,3)	U=63,50 (P<0,0001)
Adenocarcinoma	435,5 16 (352,0-666,8)	379,5 18 (195,3-692,8)	U=115,0 (P=0,3254)
DPP não complicado	320,0 10 (179,0-479,0)	470,0 15 (305,0-733,0)	U=32,00 (P=0,0184)
DPP complicado	392,0 7 (318,0-494,0)	1310,0 11 (1050,0-1901,0)	U=1,000 (P=0,0008)
Empiema	409,0 8 (272,5-692,3)	4393,0 20 (2436,0-8038,0)	U=3,000 (P<0,0001)
Outras	395,0 11 (240,0-531,0)	389,0 11 (236,0-713,0)	U=58,50 (P=0,9215)

Abreviações: IQR, intervalo interquartil; DPP, Derrame pleural parapneumônico; TB, Tuberculose; CV, Coeficiente de variação. * Shapiro-Wilk, $W=0,9021$ ($P<0,0001$), Kruskal-Wallis, $H=11,56$ ($P=0,0725$), $CV(\%)^{71}=47,23$. † Shapiro-Wilk, $W=0,4360$ ($P<0,0001$), Kruskal-Wallis, $W=0,4360$ ($P<0,0001$). Teste de Dunn para líquidos pleurais: $P<0,05$: Transudato vs. empiema, empiema vs. adenocarcinoma, empiema vs. DPP não complicado, empiema vs. TB, empiema vs. outros, DPP complicado vs. outros), $P>0,05$: Empiema vs. DPP complicado. $CV(\%)=195,53$

A Tabela 2 mostra as medianas, percentis 25 e 75 com intervalos para comparações entre DLH-S e DLH-P. Conforme mostrado na Tabela 2, pacientes com tuberculose, DPPN, DPPC e empiema apresentaram maiores níveis de DLH-P do que nos soros. As diferenças nas medianas pelo teste de U de Mann-Whitney foram estatisticamente significativas ($P <0,0001$, $P = 0,0184$, $P <0,0001$ e $P = 0,0008$, respectivamente). Nos transudatos, adenocarcinomas e outras doenças apresentaram maiores níveis de DLH-S do que nos líquidos pleurais, mas apenas o transudato foi estatisticamente significativo ($P <0,0001$).

O Teste estatístico não paramétrico H de Kruskal- Wallis foi utilizado com a finalidade de comparar três ou mais amostras independentes, tanto para a dosagem da DLH no soro e como para líquidos pleurais nas diferentes causas de derrame pleural. Revelando um valor de H: 95,33 o que corresponde um valor de $P < 0,0001$ apenas no grupo da dosagem da DLH no líquido pleural.

O Teste de Dunn foi utilizado após o valor estatisticamente significativo de H para os líquidos pleurais para identificar onde estavam as diferenças estatísticas entre as diversas doenças estudadas. A comparação da mediana da DLH no líquido pleural de tuberculose *versus* empiema, do transudato *versus* empiema, adenocarcinoma *versus* empiema, de DPP não complicado *versus* empiema, outras causas *versus* DPP complicado e outras causas *versus* empiema, foi estatisticamente significante com um valor de $P < 0,05$. Os resultados revelaram níveis elevados de atividade total de DLH no líquido pleural do empiema (mediana, 4393,0 U / L) e DPPC (mediana, 1310,0 U / L) com valores considerados não significativos pelo teste de Dunn ($P > 0,05$) como mostrado na Tabela 2. Portanto, esse grupo funciona de forma homogênea, em termos de diagnóstico, com o biomarcador DLH pleural.

Os resultados da Tabela 2 levaram os autores desta pesquisa aos cálculos estatísticos da Tabela 3. Logo, 20 pacientes com empiema e 11 pacientes com DPP complicado, considerados como grupo homogêneo, foram avaliados em relação à influência do sexo e da idade através do teste não paramétrico de Correlação de Spearman.

A tabela 3 e a Figura 4 mostram a análise da DLH-P e as correlações de Spearman com idade e sexo em 31 pacientes com DPPC e e empiema. Quando os níveis da DLH-P foram dicotomizados pela média de idade (48 anos) neste

grupo, observou-se uma correlação positiva não significativa ($Rho = 0,170$, $P = 0,5448$). Entretanto, uma correlação significativa e negativa para DPPC e empiema entre os níveis de DLH-P e sexo dos pacientes foi observada ($Rho = -0,661$ $P = 0,0376$), com elevado coeficiente de determinação ($r^2 = 0,4369$). O padrão de Cohen foi utilizado para avaliar o coeficiente de correlação (Rho). Os coeficientes de correlação entre 0,10 e 0,29 representaram uma pequena associação, os coeficientes entre 0,30 e 0,49 representaram uma associação média, e os coeficientes maiores ou iguais a 0,50 representaram uma grande associação ou relação.

Tabela 3. Análise de correlação de Spearman no estudo da desidrogenase láctica nos líquidos pleurais (DLH-P) entre idade e sexo em 31 pacientes com empiema pleural (n=20) e derrame pleural parapneumônico complicado (n=11)

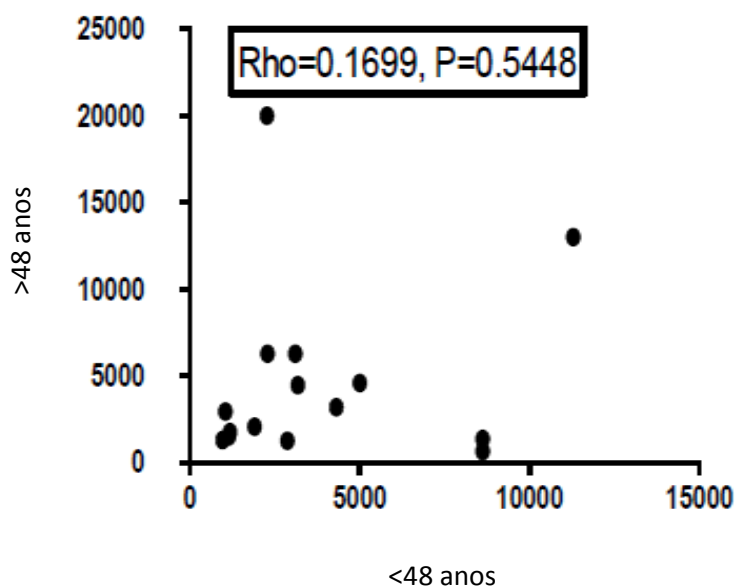
Variáveis	Níveis de DLH-P, IU/L, mediana (IQR)
Masculino (n=21)	2272,0 (1217,0-4800,0)
Feminino (n=10)	3157,0 (1702,0-6866,0)
Idade dicotomizada pela média (< 48 anos), n=16	2582,0 (1154,0-4829,0)
Idade dicotomizada pela média (≥ 48 anos), n=15	2950,0 (1371,0-6280,0)

Abreviação: IQR, intervalo interquartil, CV, coeficiente de variação, r^2 : Coeficiente de determinação.

DLH-P vs sexo: coeficiente Rho = -0,661 (95%IC: -0,911-0,0530, P=0,0376, $r^2=0,4369$).

DLH-P vs idade: coeficiente Rho = 0,170 (95%IC: -0,375-0,628, P=0,5448, $r^2=0,0289$)

A- DLH- P no DPPC e empiema. Correlação com as idades.



B- DLH- P no DPPC e empiema. Correlação com os sexos.

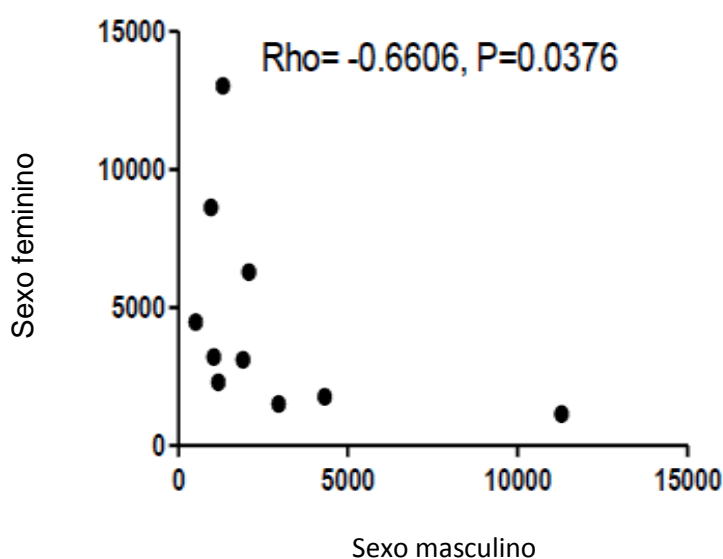


Figura 4 – Análise de correlação de Spearman no estudo da desidrogenase láctica nos líquidos pleurais (DLH-P) entre idade (A) e sexo (B) em 31 pacientes com empiema pleural (n=20) e derrame pleural parapneumônico complicado (n=11). DLH-P vs. sexo: $Rho = -0.661$ (95%CI: -0.911-0.0530, $P=0.0376$, $r^2=0.4369$). DLH-P vs. idade: $Rho = 0,170$ (95%CI: -0,375-0,628, $P=0,5448$, $r^2=0.0289$). Abreviação: Rho, coeficiente de correlação de Spearman, r^2 , Coeficiente de determinação.

Os parâmetros de diagnóstico e a área sob curva ROC foram calculados para avaliar o desempenho final dos modelos. Portanto, as curvas ROC foram realizadas apenas para homens e mulheres com o objetivo de diagnosticar DPPC e empiema, avaliando DLH como biomarcador em líquidos pleurais (Figura 5 e TABELA 4). O teste de Grubb foi realizado para determinar se o maior valor extremo do nível de DLH-P tinha um *outlier* significativo para influenciar o ponto de corte da curva ROC (Figura 2). Um valor de DLH-P igual a 20 000.0 U / L não foi removido porque o teste Shapiro-Wilk para distribuição normal rejeitou a normalidade dos dados ($W = 0,4360$, $P < 0,0001$) e também porque nenhum erro analítico foi encontrado. A Figura 5 apresenta os parâmetros de desempenho diagnóstico obtidos a partir da curva ROC para empiema e DPPC. Esses parâmetros são importantes para estabelecer os limites de decisão clínica ou potencial de utilidade do biomarcador DLH-P nos pontos de corte selecionados na curva ROC.

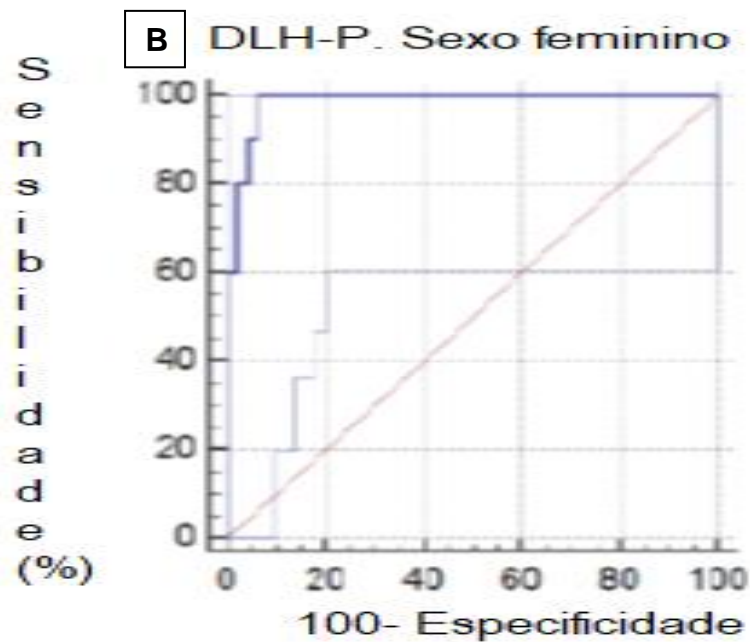
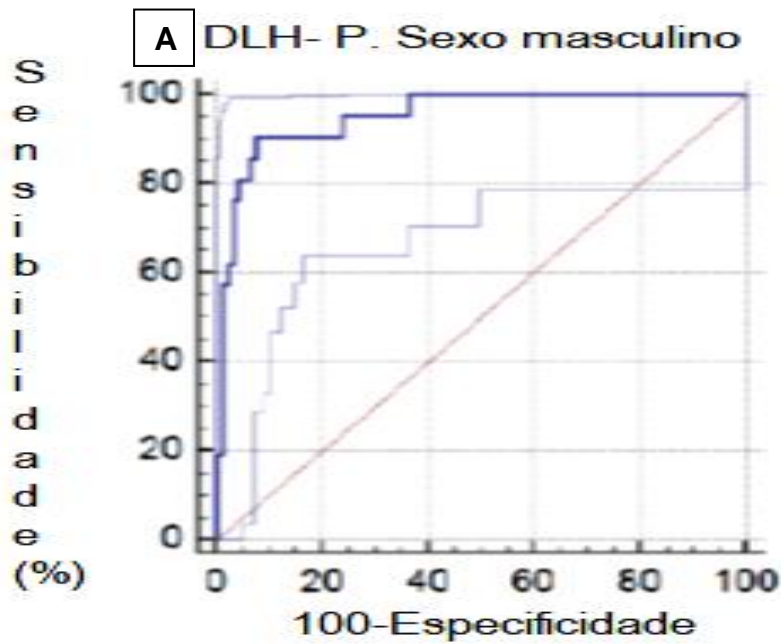


Figura 5. Curvas ROC da DLH nos líquidos pleurais no sexo masculino (A) com um valor máximo de cut off $>1188,0$ U/L (AUC=0,957, SE: 0,0218, 95% IC: 0,902-0,986, z score = 20,96, $P<0,0001$) e no sexo feminino (B) com valor máximo de cut off $> 1372,0$ U/L (AUC=0,985, 95% IC: 0,91-1,00, EP: 0,0117, estatística z = 41,43, $P<0,0001$). Abreviações: AUC, área sobre a Curva ROC, EP: erro padrão.

A tabela 4 demonstra o desempenho diagnóstico da DLH-P (U/L) como biomarcador para empiema e derrame pleural parapneumônico complicado (n=31) com o melhor ponto de corte para homens e mulheres em 174 pacientes com síndrome de derrame pleural a partir da curva ROC.

O melhor ponto de corte para a DLH-P no sexo masculino foi de 1188 U/L, com uma sensibilidade de 76,19%, especificidade de 97,89%, valor preditivo positivo 88,90%, valor preditivo negativo de 77%, razão de verossimilhança positiva de 36,19, razão de verossimilhança negativa de 0,24, acurácia de 95,70 % e uma razão de chance de 150,79.

O melhor ponto de corte da DLH-P no sexo feminino foi de 1372 U/L, com uma sensibilidade de 90%, especificidade de 95,83%, valor preditivo positivo 78,60%, valor preditivo negativo de 97,80%, razão de verossimilhança positiva de 21,60, razão de verossimilhança negativa de 0,10, acurácia de 98,5% e uma razão de chance de diagnóstico de 216,0.

Tabela 4. Desempenho diagnóstico da DLH- P (U/L) como biomarcador para empiema e derrame pleural parapneumônico complicado (n=31) como o melhor ponto de corte para homens e mulheres em 174 pacientes com síndrome de derrame pleural

Parâmetros Diagnósticos	Sexo	Sexo
	Masculino (IC 95%)	Feminino (IC 95%)
Melhor valor de referência	>1188,0 (>1142->1994,0)	>1372,0 (>1932->3041,0)
Sensibilidade (%)	76,19 (52,8-91,8)	90,00 (55,5-99,7)
Especificidade (%)	97,89 (92,6-99,7)	95,83 (85,7-99,5)
Valor preditivo positivo (%) (VPP)	88,90 (66,5-97,0)	78,60 (61,66-97,35)
Valor preditivo negativo (%) (VPN)	77,00 (68,9 – 84,8)	97,80 (79,56-119,43)
Razão de verossimilhança positivo (RVP)	36,19 (9,0-145,6)	21,60 (5,5-85,2)
Razão de verossimilhança negativo (RVN)	0,24 (0,10-0,50)	0,10 (0,020-0,70)
Acurácia (%)	95,70 (90,2-98,6)	98,5 (91,2-1,0)
Razão de chance de diagnóstico	150,79 (126,9- 176,02)	216,0 (188,15-246,8)
Prevalência (%)	68,0	32,0

Abreviação: IC 95%, Intervalo de confiança a 95% de probabilidade

A Figura 6 mostra um diagrama de ponto interativo. As linhas horizontais indicam os pontos de corte com a melhor separação nas curvas ROC (mínimo de falso positivo e mínimos de falso negativo) entre controles e casos (empiema e derrames parapneumônicos complicados).

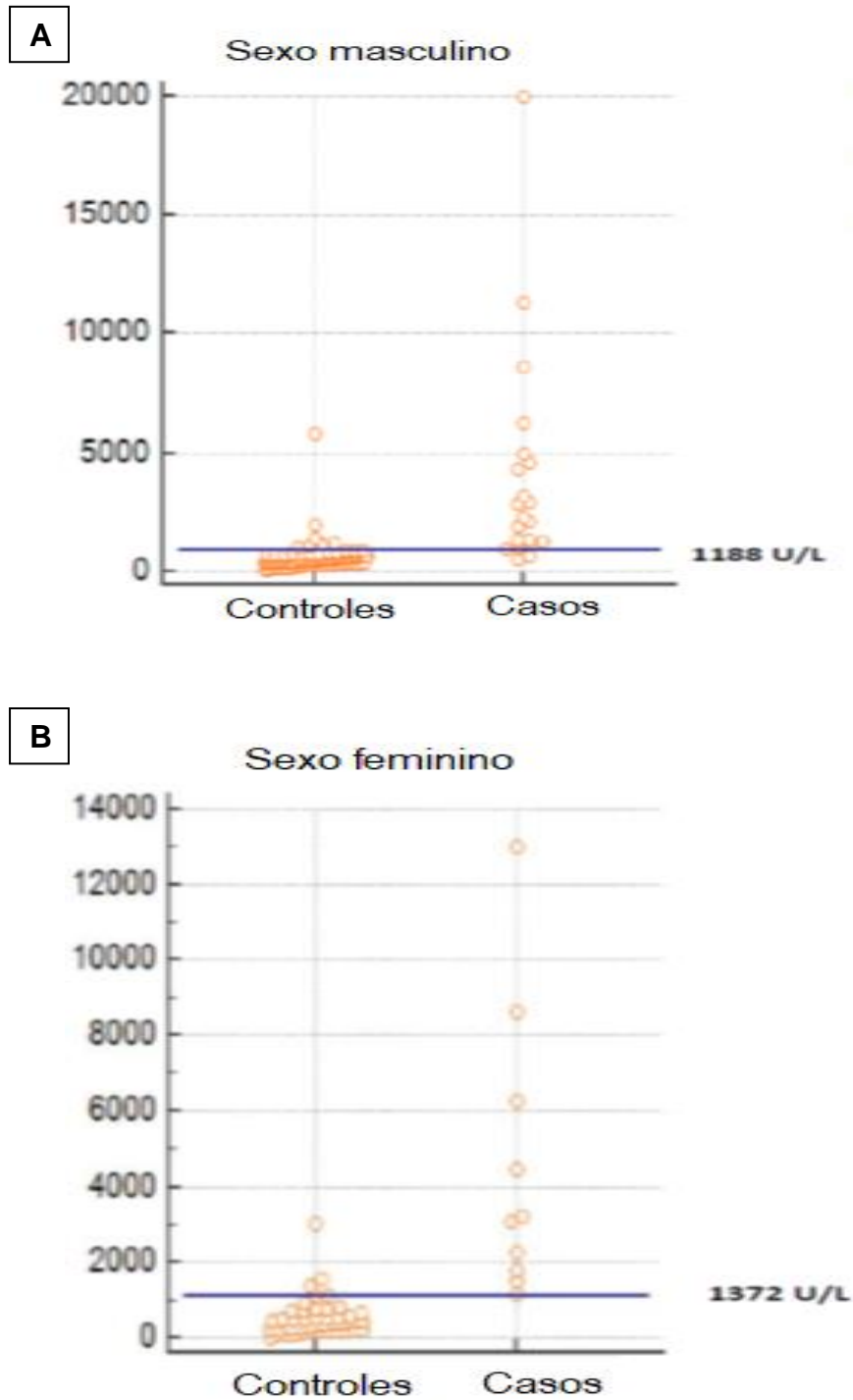


Figura 6. Diagrama de ponto interativo. As linhas horizontais indicam os valores de referência selecionados pela curva ROC para os valores de DLH no sexo masculino (A) e feminino (B) entre os casos de DPPC e empiema comparado com os controles (outras causas de derrame pleural).

7. DISCUSSÃO

Nesse estudo, a tuberculose foi a principal causa de derrame pleural nos pacientes analisados. A segunda causa foi o derrame pleural parapneumônico num total de 46 pacientes (15 pacientes com DPNC, 11 pacientes com DPPC e 20 pacientes com empiema). A terceira causa mais comum foi de transudato, seguida por adenocarcinoma.

Em um estudo realizado na Espanha, por Porcel et al em 2014, foram analisadas as toracocenteses em cerca de 3000 mil pacientes com derrame pleural e as 4 (quatro) principais causas de derrame pleural em ordem de frequência, foram: o câncer (27%), a insuficiência cardíaca (21%), a pneumonia (19%) e a tuberculose (9%)^{40,72}. Miloslav Marel et al estudaram em Praga, região da República Tcheca, em 1993, 142 pacientes com derrame pleural em que a etiologia mais comum foi a insuficiência cardíaca congestiva (46%), seguida de DPM (22%), DPP (17%) e embolia pulmonar (5,6%)⁷³. Os achados deste estudo diferem dos demais pela prevalência maior de tuberculose, comum nos países em desenvolvimento e tropicais²⁴.

O derrame pleural parapneumônico (DPP) aumenta a morbidade e mortalidade de pacientes com pneumonia. Durante o diagnóstico de qualquer pneumonia, a possibilidade de derrame pleural deve ser considerada. Os estudos de imagem com ultrassonografia transtorácica extracardíaca (ETUS) são importantes para primeira avaliação^{74,75}. Cerca de 20% dos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade complicam com derrames pleurais parapneumônicos. Em aproximadamente 30% dos pacientes, a doença avança para o DPPC ou para o empiema.

Nas populações de idosos e crianças com pneumonia, o DPP é uma complicação mais frequente. Além da idade, pacientes debilitados, sexo masculino, hospitalização e comorbidades (bronquiectasias, doença pulmonar obstrutiva crônica, câncer de pulmão, tuberculose prévia, alcoolismo, diabetes, refluxo gastroesofágico, usos de corticosteróides, abuso de drogas intravenosas, doenças sistêmicas ou imunodeficiência) também são fatores de risco para DPP^{2,76}.

No Brasil, no estudo de Ricetto et al em 2003, 44% de 85 crianças hospitalizadas com pneumonia tiveram o derrame pleural como complicação e, ainda concluíram, que o risco de evolução para complicações era quase três vezes maior no sexo feminino, não tendo sido observada associação entre idades⁷⁷. No período de 1991 a 2007, no estudo realizado por Rodrigues et al, houve uma redução significativa da mortalidade por pneumonia em crianças até 4 anos de idade no Brasil⁷⁸.

Estima-se que entre 28% e 53% das crianças hospitalizadas com pneumonia bacteriana apresentem complicações como derrame ou empiema pleural. Apesar da redução da frequência de hospitalizações por pneumonia, especialmente nos países onde há vacinação universal para o *Streptococcus pneumoniae*, a incidência do derrame pleural parapneumônico (DPP) tem aumentado e parece se relacionar com a emergência de cepas resistentes a antibióticos³⁶.

No presente estudo, observou-se que mediana da atividade da DLH no derrame pleural estava significativamente aumentada em pacientes com tuberculose, DPPN, DPPC e empiema, em comparação com a atividade sérica de DLH. A concentração de DLH nos derrames pleurais reflete o grau de inflamação

pleural, que é importante no manejo do derrame pleural associado à pneumonia. O alto teor de DLH total nos fluidos pleurais parece ser devido à liberação desta enzima pelos polimorfonucleares e / ou células mononucleadas envolvidas na inflamação pleural¹¹. A análise de DLH-P pode auxiliar na tomada de decisão para a drenagem de derrames pleurais, não purulentos⁷⁹.

Um DPP pode ser classificado em DPPN, DPPC ou empiema na análise de líquido pleural. Uma interpretação inadequada da análise do líquido pleural resultaria em uma taxa alta de derrames não diagnosticados⁴⁵. O derrame pleural parapneumônico não complicado tem uma aparência turva, com um pH maior que 7,3, um nível de glicose superior a 60 mg/dL, um nível de DLH inferior a 700 UI/L e resultados de testes microbiológicos negativos. O derrame pleural parapneumônico complicado está associado a um pH do líquido pleural inferior a 7,2, um nível de glicose inferior a 40 mg/dL e um nível de LDH superior a 1000 UI/L no líquido pleural, com a coloração de Gram e os resultados da cultura podendo ser positivos. Pus no espaço pleural sela o diagnóstico de empiema. Embora esses critérios sejam amplamente utilizados, pode haver uma sobreposição significativa entre esses grupos⁸⁰.

O American College of Chest Physicians (ACCP) e a British Thoracic Society (BTS) incorporaram esses biomarcadores clássicos (pH, glicose e LDH) para o estadiamento de infecções pleurais. Ambos recomendam que um DPP com pH do líquido pleural abaixo de 7,20 ou glicose baixa (<60 mg/dl segundo a ACCP e <40 mg/dl segundo as diretrizes da BTS) deve ser drenado. A BTS inclui ainda o critério de LDH do líquido pleural superior a 1000 U / l, embora não haja suporte para os dados destes resultados sobre este ponto de corte proposto⁷⁹.

Neste trabalho, na avaliação quantitativa da análise de DLH em soros e derrames pleurais de 174 pacientes com síndrome de derrame pleural, as medianas dos níveis de DLH no líquido pleural nos DPPC e empiema não foram diferenciados pelo teste múltiplo de Dunn ($P > 0,05$). Assim, sugerimos que, para seleção de pacientes para drenagem pleural, os DPP devem ser categorizados em DPPN de DPPC ou empiema.

Existe controvérsia quanto à utilidade clínica do pH, da lactato desidrogenase (DLH) e glicose no líquido pleural, para identificar derrames parapneumônicos complicados que requerem drenagem. Heffner et al em 1995, realizaram uma metaanálise, de estudos pertinentes, utilizando a curva ROC, para avaliar a acurácia diagnóstica desses testes, determinar os limiares de decisão apropriados e para avaliar a qualidade de sete estudos primários, relataram valores para o pH do líquido pleural ($n = 251$), LDH ($n = 114$), ou glicose ($n = 135$) em pacientes com derrame pleural parapneumônico. Os autores descreveram que o pH do líquido pleural tinha a maior precisão diagnóstica para todos os pacientes com derrames parapneumônicos, conforme medida pela área sob a curva ROC (AUC = 0,92) em comparação com glicose pleural (AUC = 0,84) ou LDH (AUC = 0,82). Após a exclusão de pacientes com empiema, o pH (AUC = 0,89) manteve a maior acurácia diagnóstica⁸¹.

Nesse estudo a análise de DLH em derrames pleurais através da correlação de Spearman, com relação à idade e sexo em 31 pacientes com empiema pleural ($n = 20$) e derrame pleural parapneumônico complicado ($n = 11$), mostrou uma correlação negativa e significativa entre a DLH-P *versus* sexo (Rho = -0,661 (IC 95%: -0,911-0,0530, $P = 0,0376$, $r^2 = 0,4369$), mas não houve correlação significativa entre o DLH-P e o ponto de corte dicotomizada pela média

da idade de 48 anos (Rho = 0.170 (IC 95%: -0.375-0.628, P = 0.5448, $r^2 = 0.0289$).

O coeficiente de determinação (r^2) é a proporção da variação na variável dependente explicada pelo modelo de regressão e, é uma medida de acurácia do modelo⁸². No modelo estudado em que foi significativo, apenas, 43,69% dos níveis de DLH para DPPC pleural e empiema, foram explicados pelo sexo dos indivíduos. Foi realizada uma pesquisa da literatura para identificar achados anteriores para comparação com os resultados aqui obtidos, não sendo encontrados resultados para comparações.

Em discordância com outros índices de acurácia diagnóstica, a curva ROC é construída com valores de sensibilidade contra valores de falso positivos para todos os valores de referência possíveis. Para selecionar o melhor valor de referência de um biomarcador é necessário levar em consideração a área sobre a curva, que indica a melhor performance ou em outras palavras a melhor acurácia do teste⁶⁶.

Recomenda-se que cada laboratório clínico estabeleça seu próprio ponto de corte usando um biomarcador representativo de sua própria população, levando em consideração sexo, idade, hábitos alimentares, medicamentos e outros fatores populacionais. Neste estudo de população brasileira, os melhores valores de corte de DLH-P selecionados a partir da curva ROC foram maiores do que 1188,0 para o sexo masculino (AUC = 0,957, SE: 0,0218, IC 95%: 0,902-0,986, estatística z = 20,96, P <0,0001) e maiores do que 1372,0 U / L (AUC = 0,985, IC 95%: 0,91-1,00, SE : 0,0117, estatística z = 41,43, P <0,0001) para mulheres com diagnóstico de DPPC e empiema pleural. Parâmetros de acurácia diagnóstica para a análise bioquímica da DLH-P podem contribuir para o

diagnóstico de empiema pleural e DPPC. A AUC com IC 95% fornece uma eficiência diagnóstica estimada para a DLH- P. Um AUC maior indica maior especificidade e sensibilidade entre todos os cortes disponíveis^{66, 83}.

A partir dos resultados desse estudo os autores propõem um novo valor de referência dos níveis de DLH-P para o diagnóstico de empiema pleural e DPPC. Como implicações práticas desse estudo, os resultados indicam que DPPC e empiema pleural devem ser tratados como uma doença única, com drenagem tubular torácica, juntamente com controle de infecção, boa nutrição e profilaxia antitrombótica².

Segundo alguns autores, a DLH tem sido relegada para servir apenas como biomarcador de câncer e confirmação de hemólise⁸⁴. Com esse estudo, os autores propõem o uso de DLH-P como biomarcador para empiema pleural e DPPC que trará como benefícios a tomada de decisão para o cirurgião, a realização de drenagem tubular fechada ou de toracoscopia precoce. É importante mencionar que a realização de toracoscopia precoce, até o quinto dia de internação, em crianças e adolescentes que apresentaram septações ou loculações no ETUS, tem sido associada a um menor tempo de internação hospitalar, devido a menor duração da drenagem, associada à melhora clínica mais rápida com menor duração da febre³⁶. A indicação precoce da toracoscopia apresenta como vantagem a facilidade de execução do procedimento, possibilitando menor sangramento perioperatório, menor tempo cirúrgico, menor tempo de permanência do dreno torácico e maior probabilidade de se obter a expansão total do pulmão acometido, evitando a toracotomia para decorticação pulmonar^{85,86}.

Como limitações do estudo, os autores enfatizam que o uso de um biomarcador é uma ferramenta auxiliar de diagnóstico, e que pode ser considerada limitada diante de uma análise das manifestações clínicas, achados de imagens, perfil epidemiológico e de possíveis falsos positivos para outras doenças.

8. CONCLUSÕES

- A DLH pleural pode ser considerada útil como biomarcador adjunto no manejo integrado da síndrome do derrame pleural.
- Derrame pleural complicado e empiema pleural devem ser tratados como uma única doença.
- De acordo com os resultados deste estudo, apenas, o sexo se correlacionou com os níveis de DLH-P, sendo o ponto de corte mais elevado nas mulheres.

9. REFERÊNCIAS

1. Silva Junior CT. Diagnóstico e tratamento das doenças pleurais./ Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. São Paulo, AC Farmacêutica, 2013.
2. Davies HE, Davies RJO, Davies CWH. Management of pleural infection in adults: British Thoracic Society pleural disease guideline 2010. *Thorax*. 2010; 65(Suppl2):41-53. doi:[10.1136/thx.2010.137000](https://doi.org/10.1136/thx.2010.137000).
3. Noppen M. Normal volume and cellular contents of pleural fluid. *Curr Opin Pulm Med*. 2001; 7(4):180-182.
4. Sachdeva A, Shepherd RW, Lee HJ. Thoracentesis and thoracic ultrasound: state of the art in 2013. *Clin Chest Med*. 2013; 34(1):1-9. doi: 10.1016/j.ccm.2012.11.005.
5. Behrsin RF, Silva Junior CT, Cardoso GP, Barillo JL, Souza JBS, Araujo EG. Combined evaluation of adenosine deaminase level and histopathological findings from pleural biopsy with Cope's needle for the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015; 8(6): 7239-46. PMID: 26261621.
6. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC. Pleural effusion: The diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med*. 1972; 77:507-13. PMID: 4642731.
7. Maranhão BH, Silva Junior CT, Chibante MAS, Cardoso GP. Determination of total proteins and lactate dehydrogenase for the diagnosis of pleural transudates and exudates: redefining the classical criterion with a new statistical approach. *J Bras Pneumol*. 2010; 36:468-74. PMID: 20835594.
8. Alsayed S, Marzouk S, Abelhalim S, Mousa E. Malignant pleural effusion biomarkers as predictor for chemical pleurodesis success. *Egypt J Chest Dis Tuberc*. 2015; 64(1):153-60. doi.org/10.1016/j.ejcdt.2014.08.005
9. Gaspar P, Al-Bayati FAY, Andrew PW, Neves AR, Yesilkaya H. Lactate dehydrogenase is the key enzyme for pneumococcal pyruvate metabolism and pneumococcal survival in blood. *Infect Immun*. 2014; 82(12): 5099–109. doi: 10.1128/IAI.02005-14.

10. Drent M, Cobben NAM, Henderson RF, Wouters EFM, Dieijen-Visser MV. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur Respir J.* 1996; 9: 1736–42. PMID: 8866602.
11. Saint-Rémy P, Buret J, Radermecker M. Significance of lactate dehydrogenases in pleural effusions. *Rev Pneumol Clin.* 1986;42(2):74-81. PMID: 3749700.
12. Pompili C, Miserocchi G. Air leak after lung resection: pathophysiology and patients' implications. *J Thorac Dis* 2016;8(Suppl 1):S46-S54
13. Agostoni E, Zocchi L. Pleural liquid and its exchanges. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2007; 159 : 311–23. DOI 10.1016/J.resp.2007.07.002
14. Miserocchi G. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. *Eur Respir J.* 1997; 10: 219–225. DOI: 10.1183/09031936.97.10010219
15. Lee, YCG, Noppen, M; Light, RW; Pleural Effusion: Transudate and Exudate. In: Laurent, GJ and Shapiro, S, (eds.) *Encyclopedia of Respiratory Diseases.* . Elsevier: Oxford. 2006. p. 358-362.
16. M Noppen. Normal volume and cellular contents of pleural fluid. *Paediatric Respiratory Reviews* (2004) 5(Suppl A), S201–S203
17. Villena V, López Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Alvarez Martinez C, Martin Escribanoc P. Estudio prospectivo de 1.000 consecutivos pacientes con derrame pleural. Etiología del derrame y características de los pacientes. *Arch Bronconeumol.* 2002; 38:21-6.
18. Maranhão BH, Silva Junior CT, Cardoso GP. Critérios bioquímicos para classificar transudatos e exsudatos pleurais. *Pulmão RJ.* 2005; 14(4): 315-320.
19. Heffner JE. Pleural fluid analysis. In: Light RW, Gary Lee YC. *Textbook of pleural diseases.* 3. ed. Taylor & Francis Group; 2016.p 153-73.
20. Vargas FS, Teixeira LR, Marchi E. *Derrame pleural.* São Paulo: Roca; 2004.

21. Sales RKB. Síndrome do Derrame Pleural .In: Maciel R, Aidé MA. Prática pneumológica. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2017. P471-9.
22. Porcel JM. Advances in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Ann Transl Med* 2016;4(15):282.doi:10.21037/atm.2016.07.23
23. Marjani M, Yousefzadeh A, Baghaei P, et al. Impact of HIV infection on tuberculous pleural effusion. *Int J STD AIDS*. 2016; 27:363-9.
24. Seiscento M, Vargas FS, Rujula MJP. Aspectos epidemiológicos da tuberculose pleural no estado de São Paulo (1998-2005)*. *J Bras Pneumol*. 2009 ;35(6):548-554.
25. Seiscento M, Conde MB, Dalcolmo MMP. Tuberculose pleural. *J Bras Pneumol*. 2006 ;32(Supl 4):S174-S181
26. Marchi E, Lundgren F, Mussi R. Derrame pleural parapneumônico e empiema. *J Bras Pneumol*. 2006 ;32(Supl 4):S190-S6
27. Junior CTS. Profilaxia para o derrame pleural parapneumônico e empiema pleural. *Pulmão RJ* 2016;25(1):33-6
28. Waisberg DR, Rego FMP, Bellato RT, **Hortêncio LO, Junqueira JJM, Terra LM et al. Conduta cirúrgica do derrame pleural parapneumônico em adultos.** *Rev Med (São Paulo)*. 2011.;90(1):15-28.
29. Silva GA. Derrames pleurais: Fisiopatologia e Diagnóstico. *Medicina, Ribeirão Preto*. 1998; 31: 208-215.
30. Porcel JM, Valencia H, Bielsa S. Factors influencing pleural drainage in parapneumonic effusions. *Rev Clin Esp*. 2016; 216(7):361-66. doi: 10.1016/j.rce.2016.04.004.
31. 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.
32. Freitas S, Fraga JC, Canani F. Thoracoscopy in children with complicated parapneumonic pleural effusion at the fibrinopurulent stage: a multi-institutional study. *J Bras Pneumol*. 2009;35(7):660-8. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132009000700007>

33. St Peter SD, Tsao K, Spilde TL, Keckler SJ, Harrison C, Jackson MA, et al. Thoracoscopic decortication vs tube thoracostomy with fibrinolysis for empyema in children: a prospective, randomized trial. *J. Pediatr. Surg.* 2009;44(1):106-11; discussion 111. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2008.10.018>
34. Gates RL, Caniano DA, Hayes JR, Arca MJ. Does VATS provide optimal treatment of empyema in children? A systematic review. *J Pediatr Surg.* 2004;39(3):381-6. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2003.11.045>.
35. Avansino JR, Goldman B, Sawin RS, Flum DR. Primary operative versus nonoperative therapy for pediatric empyema: a meta-analysis. *Pediatrics.* 2005;115(6):1652-9. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-1405>
36. Pereira RR, Alvim CG, Andrade CR, Ibiapina CDC. Parapneumonic pleural effusion: early versus late thoracoscopy. *J Bras Pneumol.* 2017; 43(5):344-50. doi: 10.1590/S1806-37562016000000261.
37. Stovroff M, Teague G, Heiss KF, Parker P, Ricketts RR. Thoracoscopy in the management of pediatric empyema. *J Pediatr Surg.* 1995;30(8):1211-5.
38. Junior CTS, Marchi E, Teixeira LR Diagnóstico e tratamento dos derrames pleurais malignos. *Pulmão RJ* 2016;25(1):17-20
39. *Zamboni MM, Junior CTS, Baretta R, Cunha ET, Cardoso GP.* Prognostic factors for survival in patients with malignant pleural effusion. *Pulmão RJ* 2016;25(1):43-52
40. José M Porcel, M Azzopardi, CF Koegelenberg, F Maldonado, NM Rahman & YCG Lee (2015): The diagnosis of pleural effusions, *Expert Review of Respiratory Medicine*, DOI:10.1586/17476348.2015.1098535.
41. Murthy SC, Rice TW. Surgical Management of Malignant Pleural Effusions. *Thorac Surg Clin.* 2013 ;23: 43–9
42. Mafort TT, Pinto BM. Papel da ultrassonografia na avaliação das doenças pleurais. *Pulmão RJ.* 2016;25(1):5-10.
43. Qureshi NR, Gleeson FV. Imaging of pleural disease. *Clin Chest Med.* 2006; 27:193-213.

44. Silva Junior CT, Cardoso GP, Silva PS, Cardoso RBB, Araújo EG. Conduta para Diagnóstico da Causa da Síndrome do Derrame Pleural. 2010;98 (4):34-7.
45. Ferreiro L, Toubes ME, Valdés L. Contribution of pleural fluid analysis to the diagnosis of pleural effusion. Med Clin (Barc). 2015; 145(4):171-7. doi: 10.1016/j.medcli.2014.08.005.
46. Silva Junior CT, Souza JBS, Barillo JL. Biomarcadores diagnósticos de tuberculose em pleurologia. JBM.2013; 101 (5):21-3.
47. Silva PS, Junior CTS, Araújo EG, et al. Adenosine deaminase: an extraordinary and omnipresent enzyme. Pulmão RJ. 2016;25(1):11-6
48. Liang QL, Shi HZ, Wang K, et al. Diagnostic accuracy of adenosine deaminase in tuberculous pleurisy: A meta-analysis. Respir Med. 2008; 102 :744–54.
49. Neves DD, Dias RM, Cunha AJLA. Predictive Model for the Diagnosis of Tuberculous Pleural Effusion. BJID 2007; 11 (February). www.bjid.com.br.
50. Jurisic V, Radenkovic S, Konjevic G. The actual role of DLH as tumor marker, biochemical and clinical aspects. Adv Exp Med Biol. 2015; 867:115-24.
51. Li XB, Gu JD, Zhou QH. Review of aerobic glycolysis and its key enzymes – new targets for lung cancer therapy. Thorac Cancer. 2015; 6(1):17-24.
52. Schwartz MK. Lactic dehydrogenase. An old enzyme reborn as a cancer marker? Am J Clin Pathol. 1991; 96(4):441-3.
53. Fiss E, Cukier A, Terra Filho M, Siqueira CC, Teixeira LR, Guazzelli AC, Cassaro CM, Romeiro-Neto M, Vargas FS. Analysis of lactic dehydrogenase fractions in pleural effusions. Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo. 1987; 42(3):103-6.
54. Raabo E, Rasmussen KN, Terkilesen TC. A study of the isoenzymes of lactic dehydrogenase in pleural effusions. Scand J Respir Dis. 1966;47(2):150-6.
55. Vernon JM, Guidollet J, Gateau O, Ripoll JP, Collet P, Louisot P, Brune J. Lactic dehydrogenase isoenzyme electrophoretic patterns in the diagnosis of pleural effusion. Cancer. 1984; 54(3): 507-11.

56. Biomarkers Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69:89–95.
57. Mayeux R. Biomarkers: potential uses and limitations. *The J of the Amer Soc for Exp Neuro Ther.* 2004; 1: 182-8.
58. Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease molecular basis and practical considerations. *Circulation.* 2006; 113: 2335-2362.
59. Soares Junior NX, Fernandes ALG, Uehara C, Santos ML, Bogossian M. Assessment of non-tuberculous pleural effusions. *J Pneumol.* 1984; 10 (2): 89-97.
60. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsoni CA, Glasziou PP, Irwig L et al. STARD 2015: An updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *Clin Chem.* 2015; 61(12):1446-52. doi: 10.1373/clinchem.2015.246280.
61. Cabaud PG, Wróblewski F. Colorimetric measurement of lactic dehydrogenase activity of body fluids. *Am J Clin Pathol.* 1958; 30(3): 234-6.
62. Hooper C, Gary Lee YC, Maskell N. Investigation of a unilateral pleural effusion in adults: British Thoracic Society pleural disease guideline 2010. *Thorax.* 2010; 65: ii4-ii17. doi: 10.1136/thx.2010.136978.
63. Silva Junior CT, Behrsin RF, Cardoso GP, Araujo EG. Evaluation of adenosine deaminase activity for the diagnosis of pleural TB in lymphocytic pleural effusions. *Biomarkers Med.* 2013; 7: 113-8.
64. Antonangelo L, Vargas FS, Genofre EH, Oliveira CMNO, Teixeira LR, Sales RKB. Differentiating between tuberculosis-related and lymphoma-related lymphocytic pleural effusions by measuring clinical and laboratory variables: Is it possible? *J Bras Pneumol.* 2012; 38 (2): 181-7.
65. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Clerc-Renaud P, Ferrero CA, Féraud G, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 3. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:643–8. doi: 10.1515/CCLM.2002.111.

66. Swets JA. The science of choosing the right decision threshold in high-stakes diagnostics. Am Psychol. 1992; 47(4):522-32. PMID:1595983.
67. Torman VBL, Coster R, Riboldi J. Normality of variables: diagnosis methods and comparison of some nonparametric tests by simulation. Rev HCPA 2012;32(2)
68. Junior CTS. A filosofia da Estatística em Pleurologia. Pulmão RJ 2016;25(1):59-62
69. Lopes MM, Verônica T. F. Castelo Branco VTF e Soares JB. Utilização dos testes estatísticos de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para verificação da normalidade para materiais de pavimentação. TRANSPORTES. 2013; 21(1): 59–66
70. Glas AS, Lijmer JG, Prins MH, Bossel GJ, Bossuyt MM. The diagnostic odds ratio: a single indicator of test performance. Journal of Clinical Epidemiology. 2003; 56: 1129–35.
71. Silva Junior CT, Behrsin RF, Cardoso GP, Monteiro NP. Avaliação do coeficiente de variação da idade dos pacientes com síndrome de derrame pleural no Hospital Universitário Antonio Pedro, cidade de Niterói, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev Port Pneumol. 2003; IX (5): 389-93.
72. Porcel JM, Esquerda A, Vives M, Bielsa S. Etiology of pleural effusions: analysis of more than 3,000 consecutive thoracenteses. Arch Bronconeumol. 2014;50:161–5.
73. Marel M, Zrustová M, Stasny B et al. The Incidence of Pleural Effusion in a Well-Defined Region. Epidemiologic Study in Central Bohemia. Chest. 1993; 104(5): 1486-89.
74. Sahn SA. Diagnosis and management of parapneumonic effusions and empyema. Clin Infect Dis. 2007; 45(11):1480-86. doi:10.1086/522996
75. Ahmed EH, Yacoub TE. Empyema thoracis. Clin Med Insights: Circ Respir Pulm Med. 2010; 4: 1–8. PMID: 21157522. PMCID: PMC2998927
76. Garrido VV, Viedma EC, Villar AF, Gafas AP, Rodríguez EP, Pérez JMP, et al. Recommendations of diagnosis and treatment of pleural effusion. Update. Arch Bronconeumol. 2014; 50 (6):235-49. doi: 10.1016/j.arbres.2014.01.016.

77. Riccetto AGL, Zambom MP, Pereira ICMR, Morcillo AM. Influence of social-economical and nutritional factors on the evolution to complications in children hospitalized with pneumonia. *Rev Assoc Med Bras.* 2003; 49(2):191-5. doi.org/10.1590/S0104-42302003000200040.
78. Rodrigues FE, Tatto RB, Vauchinski L, Leães LM, Rodrigues MM, Rodrigues VB, Catharino A, Cainelli M, Prates GP, Cerqueira TM, Zhang L. Pneumonia mortality in Brazilian children aged 4 years and younger. *J Pediatr.* 2011; 87(2): 111-4. doi:10.2223/JPED.2070.
79. Porcel JM. Pleural fluid tests to identify complicated parapneumonic effusions. *Curr Opin Pulm Med.* 2010; 16 (4):357-61. doi: 10.1097/MCP.0b013e328338a108.
80. Utine GE, Ozcelik U, Yalcin E, Dogru D, Kiper N, Aslan A. Childhood parapneumonic effusion. Biochemical and inflammatory markers. *Chest.* 2005. 1436-41. doi: [10.1378/chest.128.3.1436](https://doi.org/10.1378/chest.128.3.1436).
81. Heffner JE, Brown LK, Barbieri C, DeLeo JM. Pleural fluid chemical analysis in parapneumonic effusions. A meta-analysis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151:1700–8.
82. Mukaka MM. A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med J.* 2012; 24 (3): 69-71. PMID: PMC3576830
83. Boyd JC. Mathematical tools for demonstrating the clinical usefulness of biochemical markers. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 1997; 227: 46-63. PMID:9127468.
84. Jialal I, Sokoll LJ. Clinical utility of lactate dehydrogenase: a historical perspective. *Am J Clin Pathol.* 2015; 143(2):158-9. doi: 10.1309/AJCTP0FC8QFYDFA.
85. Schneider CR, Gauderer MW, Blackhurst D, Chandler JC, Abrams RS. Video-assisted thoracoscopic surgery as a primary intervention in pediatric parapneumonic effusion and empyema. *Am Surg.* 2010;76(9):957-61.
86. Kalfa N, Allal H, Lopez M, Saguintaah M, Guibal MP, Sabatier-Laval E, et al. Thoracoscopy in pediatric pleural empyema: a prospective study of prognostic factors. *J Pediatr Surg.* 2006;41(10):1732-7. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2006.05.066>

10. ANEXO(S)

ANEXO 1: Parecer do CEP



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE MEDICINA - HUAP

Prof. Herbert Praxedes
Prof. José Paravidino de Macedo Soares
Prof. Oscar Luiz de L. e Cime Neto
Prof. Adauto Dutra Moraes Barbosa
Prof. Benito Gilberto Málaga Muñoz
Prof. Alair Augusto S. D. dos Santos
Procurador Alfredo D. Motta
Bibliotecária Sandra Ferreira da Silva Pinto
Nutricionista Maria de Fátima L. Braga
Enfermeira Simone Cruz Machado
Farmacêutica Regina Lucia de O. Caetano
Assistente Social Marlene T. Veloso
Prof. Gerson Carlos da Silva
Srª Rosângela Arrabal Thomaz
Srª Rosiléa Said Amazonas

CEP CMM/HUAP nº 80/02 Niterói, 21/08/02

Do: Presidente do CEP CMM/HUAP
A(o) Sr.(a) Pesquisador(a):

Assunto: Parecer sobre Projeto de Pesquisa

Sr.(a) Pesquisador(a)

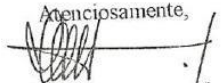
Informo a V.Sª que o Comitê de Ética em Pesquisa constituído nos termos da Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e devidamente registrado no Comitê Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo de pesquisa e seu respectivo termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Título do Projeto: MARCADORES BIOLÓGICOS NO LÍQUIDO PLEURAL: TESTES DIAGNÓSTICOS DO AMBULATÓRIO DE PESQUISA EM PLEUROLOGIA, HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ANTONIO PEDRO, UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE, NITERÓI, RIO DE JANEIRO.

Pesquisador Responsável: CYRO TEIXEIRA DA SILVA JUNIOR.

Data: 21/08/02

Parecer: Aprovado, por seus próprios fundamentos.

Atenciosamente,

Prof. Herbert Praxedes
Presidente

**ANEXO 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA
PACIENTES MAIORES E CAPAZES**

NOME DO PACIENTE:

IDADE (anos):

REGISTRO:

PRONTUÁRIO (HUAP):

**TÍTULO DO PROJETO: Marcadores Biológicos no Líquido Pleural: Testes
Diagnósticos do Ambulatório de Pesquisa em Pleurologia, Hospital
Universitário Antônio Pedro, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio
de Janeiro, Brasil**

**RESPONSÁVEL PELO PROJETO: Prof. Dr. Cyro Teixeira da Silva Junior;
CRM 52 35348-1;**

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE (UFF) – FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA**

Eu,

abaixo assinado, declaro ter pleno conhecimento que possuo uma doença chamada Derrame Pleural, que precisa ser esclarecida sua causa para que eu possa tratar-me corretamente. Causa falta de ar, tosse, catarro, emagrecimento e febre. Para tratamento correto são necessários vários exames de laboratório realizados após retirada, com anestesia local e agulha fina da água que apareceu em meu pulmão. Estou ciente da minha capacidade para assinar este termo de consentimento, porque estou envolvido com o meu tratamento, porque compreendo e avalio o tipo de alternativa proposta para este tratamento e porque, sendo maior de 21 anos, possuo capacidade legal para tal decisão. Estou sabendo que o objetivo desta pesquisa é realizar vários exames em meu líquido pleural, para no futuro, a causa de minha doença, e outras, serem necessários poucos exames avaliar sua causa e iniciar tratamento. Isto é informação recente para os médicos envolvidos na pesquisa e poderei beneficiar outros pacientes. Eu fui informado que os procedimentos/exames necessários para esta pesquisa são os mesmos realizados para saber a causa e acompanhamento de minha doença. 90 pacientes participarão deste estudo. O tempo de participação é de 24 meses. O que está envolvido neste estudo são dados do meu prontuário no HUAP. Estou ciente que esta pesquisa não envolve riscos para minha saúde. Em caso de dúvidas ou qualquer desconforto, o local para procurar o médico responsável pela

pesquisa é o Ambulatório de Pneumologia do HUAP, de segunda a sexta-feira de oito ao meio-dia ou pelo telefone 21- 2620 2828, ramal 237, plantão da Pneumologia, para entrar em contato com a equipe responsável pela pesquisa. Eu fui informado que tenho liberdade para retirar o meu consentimento de participação a qualquer momento, sem que isto traga prejuízo à continuação de meu tratamento. Eu sei que as informações deste estudo são confidenciais. Não será utilizada minha imagem para divulgação e que não existirá danos físicos, morais, psicológicos e financeiros decorrentes do objetivo desta pesquisa. Eu sei que poderei obter mais informações sobre os meus direitos, como participante deste estudo, através do consultório da Comissão de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal Fluminense, no HUAP, através do telefone 21- 2620 5856.

Niterói,de.....de.....

.....

Assinatura do paciente

.....

Assinatura do Responsável pela Pesquisa/Inscrição no CRM

.....

Assinatura da testemunha

.....

Assinatura da testemunha