



DIAGNOSTICO ENZIMOLOGICO DE LOS DERRAMES PLEURALES

L. Domínguez Juncal, H. Vereá Hernando y J. Fontán Bueso.

Sección de Neumología. Hospital Juan Canalejo. La Coruña.

Introducción

Los enzimas, catalizadores orgánicos responsables de la mayoría de las reacciones químicas que suceden en el organismo, se encuentran en todos los tejidos. Se determinan por su actividad, más que en función de su concentración, puesto que existen en cantidades muy pequeñas y tienen una gran semejanza química. La actividad enzimática se expresa en unidades que representan el aumento de uno de los productos, el descenso de la concentración del sustrato, o el índice de cambio de la concentración de coenzimas¹.

La selección de las pruebas enzimáticas para uso diagnóstico se basa en la experiencia acumulada, en los datos experimentales que permiten la formulación de factores que conducen a unos niveles anormales y en la correlación de los enzimas particulares con la naturaleza de los procesos patológicos y los órganos afectados.

Se ha realizado la determinación de múltiples enzimas en el líquido pleural, aunque la mayoría carece de utilidad diagnóstica²⁻¹⁰. La GOT^{2,3}, GPT^{2,3}, aldolasa², fosfatasa alcalina⁴, transcetolasa², malatodeshidrogenasa², enzima convertora de la angiotensina⁵, isocitrato deshidrogenasa², entre otras, no aportan ninguna información diagnóstica útil. Aunque inicialmente se sugirió que la fosfatasa ácida estaba aumentada en el líquido pleural de la pleuresía metastásica por carcinoma prostático⁶, posteriormente se comprobó que carecía de valor diagnóstico⁷. La fosfohexosaisomerasa presenta un comportamiento moderado como marcador tumoral, si bien algunos autores informan que cifras inferiores a 49 U/l parecen excluir la patología neoplásica⁸.

En el presente artículo nos dedicaremos a actualizar los cuatro enzimas cuya determinación en el líquido pleural ha sido rutinaria hasta el momento actual (lactodehidrogenasa y amilasa) o deberá ser rutinaria en el futuro (adenosinadeaminasa y lisozima).

Lactodehidrogenasa (LDH)

La LDH es un enzima de la cadena metabólica de la glicólisis anaerobia, constituyente habitual en cualquier tejido del organismo. La molécula de LDH es un tetrámero en el que cada una de sus cuatro subunidades polipeptídicas se designa como subunidad cardíaca (*H: heart*) o subunidad muscular (*M: muscle*), así denominadas por un predominio en los respectivos tejidos. Las cinco combinaciones posibles de las subunidades H y M para formar el tetrámero se designa de LDH a LDH5 (isoenzimas LDH) y son separables electroforéticamente¹¹.

Clásicamente los derrames pleurales se dividen en dos grandes grupos: exudados y trasudados. En los primeros existe enfermedad pleural, mientras que en los segundos las superficies pleurales no están afectadas por proceso patológico alguno y el derrame se produce por un desequilibrio de presiones oncóticas e hidrostáticas capilares. Esta división es muy útil en cuanto a la orientación diagnóstica del derrame pleural¹². La determinación de LDH en suero y líquido pleural se ha mostrado útil para diferenciar exudados y trasudados^{12,13}. En este sentido, un valor de LDH en líquido pleural mayor de 200 U/l tiene una sensibilidad de 72 % y una especificidad de 100 %. El cociente de la LDH de líquido pleural y suero mayor de 0,6 posee una sensibilidad del 88 % y especificidad del 96 % para diferenciar exudados y trasudados¹². Si a estos dos parámetros les unimos el cociente de proteínas en líquido pleural y suero mayor de 0,5 (criterios de Light) la sensibilidad se eleva al 99 %¹². La mayoría de los pacientes cuyo derrame pleural cumple únicamente los criterios de exudado con la LDH, pero no con los niveles de proteína, padecen derrames pleurales neoplásicos o paraneumónicos¹².

Los estudios de Wroblewski et al¹⁴ sugirieron que una elevación de la LDH en líquido pleural era característica de derrame maligno y que casi todos los derrames benignos tenían niveles bajos de LDH. Posteriormente, se ha comprobado que la determinación de la LDH no tiene valor en el diagnóstico diferencial de los derrames pleurales exudativos, ya que su elevación únicamente indica la gran actividad inflamatoria de los exudados, circunstancia que acontece tanto en la pleuresía neoplásica, como en la tuberculosa, paraneumónica, etc^{12,15}. El nivel de LDH en líquido pleural es un indicador bastante fiable del grado de inflamación pleural. Donde más utilidad se le ha atribuido es en el derrame paraneumónico¹⁶. En este derrame, un nivel de LDH pleural superior a 1.000 U/l sugiere que él se ha complicado¹⁶. En todos estos casos existe una buena correlación entre la elevación de la LDH y el descenso de la glucosa y el pH en el líquido pleural, siendo este último el marcador más precoz de derrame pleural paraneumónico complicado^{16,17}.

Los resultados de los estudios del valor diagnóstico de la determinación de los isoenzimas de la LDH son contradictorios^{18,19}. Ritcherich et al¹⁸ concluyen que el patrón de isoenzimas de LDH de los derrames pleurales benignos es reflejo del patrón de sérico, mientras que los derrames malignos contienen más LDH4 y LDH5. Fröhlich et al¹⁸ informan que los derrames malignos se caracterizan por una actividad enzimática máxima de LDH2, LDH3, LDH4, mientras que en los derrames benignos se hallan aumentados los niveles LDH4 y LDH5. Light et al¹⁸ informan en sus derrames malignos de la elevación de LDH2 con descenso de LDH4 y LDH5, aunque estos últimos no estaban elevados en los derrames benignos.

Recibido el 7-3-1988 y aceptado el 6-7-1988.



En resumen, la determinación de LDH es útil para diferenciar exudados de trasudados, aunque carece de valor en el diagnóstico diferencial de los derrames pleurales exudativos. Actualmente, la determinación de las isoenzimas de la LDH no tiene utilidad clínica.

Amilasa

La determinación rutinaria de amilasa en el líquido pleural carece de valor diagnóstico y únicamente posee un valor orientativo en determinadas patologías²⁰⁻²⁹. La elevación de los niveles de amilasa en líquido pleural por encima de los valores séricos normales sugiere: pancreatitis²¹, ruptura esofágica²³⁻²⁵ o derrame maligno²⁸.

El 10 % de los pacientes con pancreatitis presentan un derrame pleural asociado, con un nivel de amilasa pleural más elevado y mantenido que el nivel de amilasa sérica²¹. En la ruptura esofágica, el nivel de amilasa en líquido pleural está marcadamente elevado y es de origen salivar, más que de origen pancreático²³⁻²⁵. La elevación de amilasa pleural en los derrames malignos es generalmente de menor cuantía que en la pancreatitis o ruptura esofágica. El lugar primario del tumor puede ser el páncreas, aunque habitualmente es otro (pulmón y ovario principalmente)²⁸.

Adenosina deaminasa (ADA)

La adenosina deaminasa (ADA) es un enzima que interviene en el catabolismo de las purinas, catalizando la desaminación de adenosina a inosina³⁰. Se encuentra ampliamente distribuida por el organismo, predominando en el tejido linfoide, donde es de diez a doce veces superior en los linfocitos T que en los B³¹. Posee una función crucial en la proliferación y diferenciación de los linfocitos (principalmente células T), así como en la maduración de monocitos a macrófagos³¹. Se han descrito varios casos de inmunodeficiencia combinada asociados a déficit congénito de ADA³². Por otro lado, se ha observado un incremento de los niveles plasmáticos de ADA en ciertas enfermedades infecciosas en las que la inmunidad celular está estimulada: fiebre tifoidea, mononucleosis infecciosa, brucelosis, entre otras³³. También se ha descrito una elevación de este enzima en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con meningitis tuberculosa, lo que permitiría el diagnóstico diferencial con la meningitis linfocítica viral.

Considerando que la pleuritis tuberculosa es una entidad en la que la inmunidad celular está estimulada, se sugirió la elevación de ADA en el líquido pleural de estos pacientes³⁴. Este hallazgo fue confirmado posteriormente por Ocaña et al³⁶, aunque no existía correlación con el elevado porcentaje de linfocitos T del líquido pleural, lo que probablemente sugiere que la elevación de ADA se relaciona más con el grado de maduración del linfocito T que con su número.

La determinación de ADA en el líquido pleural se efectúa mediante el método colorimétrico de Giusti y Galcanti, basado en la determinación indirecta de la formación de NH₃ producido al actuar el ADA en exceso de sustrato (adenosina)³⁶.

Basándose en los resultados obtenidos en los citados estudios, la mayor parte de los grandes hospitales de nuestro país introdujeron la determinación de ADA en líquido pleural de forma rutinaria³⁷⁻⁴³. Todos los estudios publicados hasta la actualidad (agrupando en su totalidad más de un millar de derrames pleurales analizados) coinciden en destacar un incremento significativo ($p < 0,001$) de los niveles de ADA en el líquido pleural de las pleuritis tuberculosas

respecto a las pleuritis de otras etiologías (neoplásicas, metaneumónicas, LES, etc.) excepto el empiema y la pleuritis reumatoide. Generalmente se consideró en cada serie como valor distintivo de la actividad de ADA (cut-off) la cifra inferior del rango del grupo de derrames tuberculosos. Esta cifra oscila entre 30 U/l en la serie de Piras et al³⁴, y 50 U/l en la de Petterson et al⁴¹, con una media de 43 U/l; teniendo en cuenta este valor, la sensibilidad de la determinación de ADA pleural para el diagnóstico de pleuritis tuberculosa es del 100 %, con una especificidad que oscila entre el 83 % y el 98,5 %. La determinación de ADA no ayuda a diferenciar entre pleuresia tuberculosa y reumatoidea, siendo preciso en estos casos recurrir a otros marcadores (glucosa, C3 y C4). No se ha estudiado en los derrames pleurales sarcoideos por su baja frecuencia, aunque lógicamente el ADA estaría elevado igual que en la pleuritis reumatoidea y tuberculosa por tratarse de enfermedades granulomatosas.

Se han descrito varios falsos positivos entre los derrames pleurales metastásicos³⁴⁻⁴³: tres por adenocarcinoma pulmonar, tres por linfoma de Hodgkin, uno por linfoma no Hodgkiniano y uno por metástasis de hipernefroma. En contraste con otros estudios, también se han descrito falsos positivos en relación con LES^{37,41}. Por último se ha descrito un incremento de ADA pleural (70 U/l) en un derrame secundario a pseudoquistes pancreáticos³⁸.

El cálculo del cociente de ADA líquido pleural/suero carece de valor diagnóstico ya que aumenta la superposición de valores entre los distintos grupos etiológicos del derrame pleural exudativo.

Lisozima (L)

La L (muramidasa) es un enzima bacteriolítico de bajo peso molecular descubierto por Fleming en 1922. Está ampliamente distribuida por el organismo predominando en los líquidos corporales (suero, saliva, lágrima, secreciones nasales etc.). En el aparato respiratorio la L sólo se encuentra en las glándulas serosas de la submucosa bronquial; la pleura no contiene L⁴⁴.

La concentración de L en los líquidos corporales está elevada en múltiples enfermedades⁴⁵⁻⁵⁰. Un aumento de la L sérica (Ls) se ha observado en varias enfermedades granulomatosas (sarcoidosis, tuberculosis, enfermedad de Crohn) aunque su determinación ha demostrado ser especialmente útil en hematología, con el hallazgo de niveles de L marcadamente elevados en suero y orina de pacientes con leucemia monocítica y mielomonocítica⁴⁷.

Los dos métodos más empleados para la determinación de L son el método turbidimétrico (estándar: lisozima de clara de huevo) y el método de lisoplate (estándar: lisozima humana purificada). Los valores de referencia de actividad lítica de la L de distintas fuentes⁴⁷.

En 1976, Klockars et al⁴⁸ descubrieron que la concentración media de L en líquido pleural (Lp) de los derrames tuberculosos es mayor que en los derrames no tuberculosos, excepto el derrame metaneumónico complicado, empiema o ambos. Posteriormente algunos autores le adjudicaron a la determinación de Lp una utilidad diagnóstica limitada^{49,50}. La causa de las discrepancias puede ser la diferente proporción en estas series de derrames pleurales tuberculosos y no tuberculosos, incluidos los derrames malignos (¡incluían tan sólo dos derrames tuberculosos!). Varios autores confirmaron los hallazgos iniciales de Kockars et al⁵⁰⁻⁵². Los trabajos de Klockars⁵⁰, Asseo⁵² y Vereas⁵⁵ coinciden en destacar un incremento significativo de Lp en las pleuritis tuberculosas respecto a las no tuberculosas ($p < 0,01$ y $p < 0,001$). La

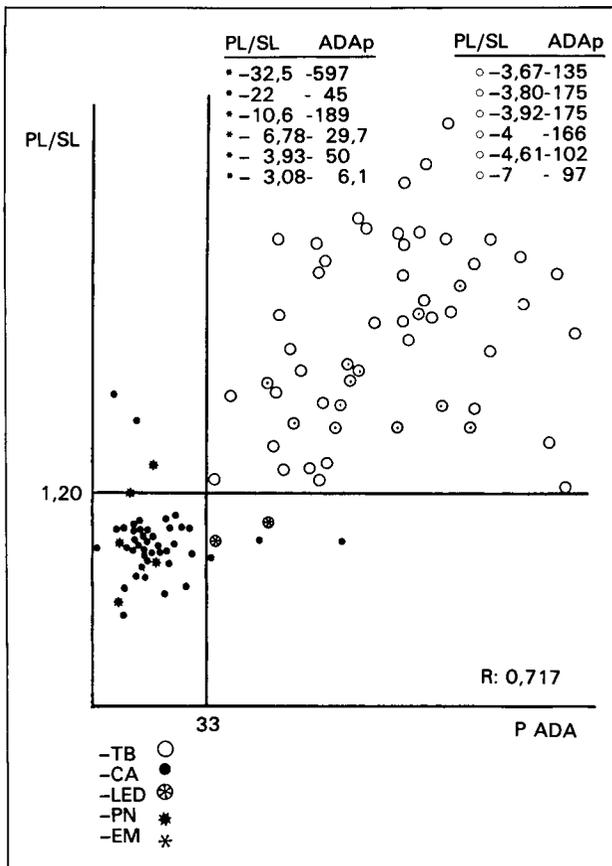
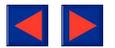


Fig. 1. Al establecer un eje de coordenadas, donde Lp/s es 1,2 y ADA es 33, el grupo de tuberculosis se sitúa dentro del cuadrante y los derrames no tuberculosos fuera del mismo, evitándose la superposición. (TB: tuberculosis; CA: carcinoma; LED: lupus eritematoso diseminado; PN: paraneumónico; EM: empiema).

diferencia es más marcada en lo que se refiere al cociente de L en líquido pleural y suero (Lp/s), por lo que se utiliza sistemáticamente este cociente.

Generalmente se consideró en cada serie como valor distintivo (*cut-off*) del cociente Lp/s el resultado inferior del rango del grupo de derrames tuberculosos (1 en la serie de Asseo, 1,1 en la de Klockars y 1,2 en la de Vereá). Excluyendo los empiemas (los cuales no suelen mostrar dificultad diagnóstica por el aspecto del líquido y sus características bioquímicas y microbiológicas), el cociente Lp/s mayor de 1,2 mostró una sensibilidad de 100 %, especificidad 94,9 %, eficiencia 97,3 %, en el diagnóstico diferencial de los derrames pleurales tuberculosos y no tuberculosos.

Aunque inicialmente la L no era útil para diferenciar pleuritis tuberculosas y reumatoidea, recientemente Pettersson et al destacaron la importancia de algunas consideraciones metodológicas en el estudio del derrame pleural asociado a la artritis reumatoide⁵⁴. Estos autores demostraron que el cociente Lp/s en el derrame reumatoide está elevado en todos los casos cuando la determinación de L se realiza por el método turbidimétrico, mientras que sólo se eleva en algunos casos por el método de lisoplata.

Aunque existe poca experiencia, la determinación de L no es útil para diferenciar el derrame tuberculoso del sarcoideo. En lo que se refiere al LES, los resultados son contradictorios: mientras que en la serie Vereá, los dos casos de LES

tienen un cociente de Lp/s menor de 1,2, algunos autores han observado derrames lúpicos con cociente mayor de 1,2^{52,53}. También se han descrito falsos positivos entre los derrames pleurales malignos: un adenocarcinoma bronquial en la serie de Asseo⁵⁴ y un adenocarcinoma de origen desconocido y uno indiferenciado en la serie Vereá⁵⁵. En esta misma serie, dos casos de derrame pleural paraneumónico no siguieron el criterio Lp/s.

Los valores elevados de Lp/s mayor de 1 sugieren que la L se está produciendo en la pleura o en el líquido pleural. Mediante una técnica de inmunoperoxidasa⁵³, que tiñe selectivamente los tejidos para L, se ha demostrado en las pleuritis tuberculosas que los granulomas de células epiteloides y los macrófagos contienen L. En el empiema se demostró que la L se encuentra en los granulocitos del exudado pleural. En las restantes pleuresías (trasudados, neoplasias, etc, con cociente Lp/s menor de 1, se considera que la L proviene del suero por filtración o difusión de la circulación sistemática. Klockars et al⁵³ no demostraron L en las células tumorales de sus pacientes, aunque Vereá et al⁵⁵ hallaron tinción positiva para L en una muestra biopsica de una pleuritis neoplásica que correspondía a una paciente con un adenocarcinoma primario no localizado (recientemente se ha demostrado L en algunos adenocarcinomas gástricos)⁵⁷.

La determinación simultánea de ADA y L discrimina perfectamente los derrames pleurales tuberculosos con una sensibilidad, especificidad y eficiencia del 100 %, a pesar de la buena correlación ADA y Lp/s ($r = 0,717$)⁴³. En este estudio (fig. 1), el valor de 1,2 para el cociente Lp/s fue superado por dos derrames paraneumónicos y dos derrames malignos (adenocarcinoma y carcinoma indiferenciado). Dos derrames lúpicos y tres malignos (2 adenocarcinomas y 1 linfoma) tuvieron cifras de ADA superior a 33 U/l. Ninguno de estos derrames presentó simultáneamente un valor de Lp/s mayor de 1,2 y de ADA mayor de 33 U/l. Por lo tanto, en este estudio la determinación simultánea de ADA y Lp/s demostró mayor rentabilidad diagnóstica que la de uno sólo. Consideramos que se precisa más experiencia en este sentido, especialmente en el grupo de los derrames secundarios a patología colagenovascular.

Comentario final

Dadas las múltiples etiologías del derrame pleural es imprescindible adoptar un método de estudio protocolizado. La distinción entre trasudado y exudado es el primer paso diagnóstico. Teniendo en cuenta el predominio etiológico de los derrames pleurales exudativos tuberculosos y malignos, un segundo paso diagnóstico sería establecer la diferenciación bien entre derrames malignos y benignos, bien entre derrames tuberculosos y no tuberculosos. En cuanto a la primera posibilidad (diferenciar malignos y benignos) los marcadores tumorales mediante su determinación sérica o en líquido pleural tienen un valor moderado como elementos diagnósticos. El valor diagnóstico de ADA y L ha convertido en realidad la segunda posibilidad. El valor diagnóstico de ADA y L no está en la diferenciación de derrames benignos y malignos, sino en la distinción entre derrames tuberculosos y no tuberculosos (de los que los derrames malignos son la mayor parte).

Los resultados de los estudios realizados hasta la actualidad nos permiten suponer que un cociente Lp/s menor de 1,2 y/o ADA menor de 33 U/l prácticamente descarta la etiología tuberculosa del derrame pleural, aunque no orienta hacia otras etiologías. Un cociente de Lp/s mayor de 1,2 y/o ADA mayor de 33 U/l prácticamente descarta la etio-



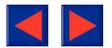
logía neoplásica del derrame y nos permite suponer con un alto grado de seguridad que se trata de un derrame tuberculoso.

Tanto el ADA como la L cumplen los criterios exigidos a un buen test diagnóstico: practicabilidad, accesibilidad, economía, ausencia de iatrogenia y fiabilidad (en cuanto a sensibilidad y especificidad). La determinación de ADA y L son métodos sencillos, rápidos y de gran utilidad diagnóstica, sobre todo en pacientes con derrames pleurales de pequeña cuantía o que presentan contraindicaciones para métodos más cruentos, principalmente en poblaciones con una elevada incidencia de tuberculosis, como acontece en nuestro país. Además, los dos enzimas son asequibles a pequeños centros hospitalarios que carecen de otros servicios diagnósticos (citólogo, patólogo, bacteriólogo, etc). Basándose en la experiencia obtenida, consideramos que la determinación de ADA y L debe ser rutinaria en todos nuestros hospitales.

El futuro se presenta francamente optimista. La creciente introducción de la tecnología moderna y los grandes avances de la biología molecular permitirán en un futuro no muy lejano el uso racional de nuevos marcadores tumorales, que combinados con la determinación de las enzimas, permitirá una mejora diagnóstica, así como disminuir el porcentaje de derrames pleurales idiopáticos.

BIBLIOGRAFIA

1. Wilkinson JH. The principles and practice of diagnostic enzymology. London. Edward Arnold 1976.
2. Brauer MJ, West M, Zimmerman HJ. Comparasion of glycolytic and oxidative enzyme and transaminase values in benign and malignant effusions with those in serums. *Cancer* 1983; 16:533-541.
3. Viejo Bañuelos JL, Gallo Masin F, Cantabrana Alutiz A. Valor de las enzimas y proteinograma en el estudio de los exudados pleurales. *Arch Bronconeumol* 1979; 15:156-157.
4. Feldestein AM, Samachson J, Spencer H. Levels of calcium, phosphorus, alkaline phosphatase and protein in effusion fluid and serum in man. *Am J Med* 1963; 35:530-535.
5. Bedrossian CM, Stein DA, Miller WC, Woo Y. Levels of angiotensin-converting enzyme in pleural effusion. *Arch Pathol Lab Med* 1981; 105: 345-346.
6. Veran P et al. Les phosphatases des épanchements pleuraux de diverses natures. Leur interet dans le cancer de la prostate. *J Fr Med Chir Thorac* 1965; 19:621-643.
7. Miguères J, Jover A, Abou P. Valeur theorique et pratique de certains dosages enzymatiques au cours des épanchements pleurax (amylase, phosphatases, lacticodestrydgerasa). A propos de 129 observations. *J Fr Med Chir Thorac* 1969; 23:443-458.
8. Martínez Vea A, Gatell JM, Segura F et al. Diagnostic value of tumor markers in serous effusion. Carcinoembryonic antigen, alpha 1 acid glycoprotein, alpha fetoprotein phosphohexose isomerase and beta 2 microglobulin. *Cancer* 1982; 50:1783-1788.
9. Vladutiu AE, Adler RH, Grason FW. Diagnostic value of biochemical analysis of pleural effusions. *Am J Clin Pathol* 1979; 79:40-214.
10. Yoshioki N, Hirotsuqu K, Kaoru S. Carcinomatous and tuberculous pleural effusions. Comparison of tumor markers. *Chest* 1985; 87:351-355.
11. Wilkinson JH. LDH isoenzymes. En: *Isoenzymes*, ed. 2. London. Chapman & Hall Ltd 1970; 134-204.
12. Light RW, Macgregor I, Luschinger PC. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972; 77:507-513.
13. Chandrasekhar AJ, Palatao A, Dubin A et al. Pleural fluid, lactic acid dehydrogenase activity and protein content. *Arch Intern Med* 1969; 123:48-50.
14. Wroblewski F, Wroblewski R. The clinical significance of lactic dehydrogenase activity of serous effusions. *Ann Intern Med* 1958; 48:813-822.
15. Hirsch A, Ruffie P, Nebut M, Bignon J, Cheretien J. Pleural effusion: laboratory test in 300 cases. *Thorax* 1979; 34:106-112.
16. Light RW, Girard WM, Jerkinson SG, George RB. Paraneumonic effusions. *Am J Med* 1980; 69:507-511.
17. Potts DE et al. The acidosis of low-glucose pleural effusions. *Am Rev Respir Dis* 1973; 108:660-664.
18. Light RW, Ball WC. Lactate deshydrogenase isoenzymes in pleural effusions. *Am Rev Respir Dis* 1973; 108:660-664.
19. Vergnon JM, Guidollet J, Gateau O. Lactic dehydrogenase isoenzyme electrophoretic patterns in the diagnosis of pleural effusion. *Cancer* 1984; 54:507-511.
20. Light RW, Ball WC. Glucose and amylase in pleural effusions. *JAMA* 1973; 225:257-260.
21. Kaye MD. Pleuropulmonary complications of pancreatitis. *Thorax* 1968; 23:297-306.
22. Ende N. Studies of amylase activity in pleural effusions and ascitis. *Cancer* 1960; 13:283-287.
23. Sherr HP et al. Origin of pleural fluid amylase in esophageal rupture. *Ann Intern Med* 1972; 76:985-986.
24. Maulitz RM, Good JT, Kaplar RL et al. The pleuropulmonary consequences of esophageal rupture: An experimental model. *Am Rev Respir Dis* 1979; 120:363-367.
25. Abbot OA et al. Atraumatic so called «spontaneous» rupture of the esophagus. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1970; 59:67-83.
26. Cameron JL. Chronic pancreatic ascites and pancreatic pleural effusions. *Gastroenterol* 1978; 74:134-140.
27. Sangier B, Emonot A, Planchu M et al. Les épanchements riches en amylase en dehors des pancreatites quatorze observations. *Nou Presse Med* 1976; 5:2777-2780.
28. Cramer SF, Bruns DE. Amylase-producing ovarian neoplasm with pseudo-Neigs syndrome and elevated pleural fluid amylase. Case report and ultrastructure. *Cancer* 1979; 44:1715-1721.
29. Salt WB, Scherker S. Amylase. Its clinical significance: a review of the literature. *Medicine* 1976; 55:269-289.
30. Spencer N, Hopkinson DA, Harris H. Adenosine polymorphism in man. *Ann Hum Genet* 1968; 32:9-14.
31. Barton R, Martiniuk F, Hirschhorn R, Goldscheider I. The distribution of adenosine deaminase among lymphocyte populations in the cat. *J Immunol* 1979; 122:216-220.
32. Giblett ER, Anderson JE, Cohen F et al. Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet* 1972; 2:1067.
33. Galanti B, Nardiello S, Russo M et al. Increased lymphocyte adenosine deaminase in thyphoid fever. *Scand J Infect Dis* 1981; 13:47-50.
34. Piras M, Gallis C, Brudoni M et al. Adenosine deaminase activity in pleural effusion: An and to differential diagnosis. *Br Med J* 1978; 2 (6154): 1751-1752.
35. Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Segura RM et al. Adenosine deaminase in pleural fluids: test for diagnosis of tuberculous pleural effusions. *Chest* 1983; 84:51-53.
36. Giusti G. Adenosine deaminase. En: *Methods of enzymatic analysis*. Bergmeyer HU ed. New York. Academic Press Inc 1974.
37. Cardona MJ, Granados A, Dorca J et al. Valor diagnóstico de la adenosina desaminasa en el derrame pleural tuberculoso. *Arch Bronconeumol* 1985; 21:26-27.
38. Borderias L, Mir J, Teran J et al. La adenosina desaminasa en el diagnóstico de los derrames pleurales. Nuestra experiencia en 100 pacientes. *Arch Bronconeumol* 1986; 22:31-32.
39. Cardona Iguascen MJ, Orts Costa J, Rodríguez Sachón B et al. Tuberculosis pleural y determinación de adenosina desaminasa. *Med Clin* 1985; 85:559.
40. Martínez Vázquez JM, Ocaña F, Fernández de Sevilla J et al. Diagnóstico temprano de la tuberculosis pleuropéritoneal mediante la determinación de adenosina desaminasa. *Med Clin* 1984; 83:578-580.
41. Patterson T, Ojala K, Weber TH. Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusion. *Acta Med Scand* 1984; 215:299-304.
42. Ocaña I, Martínez Vázquez JM, Ribera E et al. Adenosine deaminase activity in the diagnosis of lymphocytic pleural effusions of tuberculous, neoplastic and lymphomatous origin. *Tubercle* 1986; 67:141-145.
43. Fontán Bueso J, Vereá Hernando H, García-Buella J. Diagnóstico value of simultaneous determination of the pleural adenosine deaminase and the pleural lysozyme/serum lysozyme ratio in the pleural effusions. *Chest* 1988; 93:303-307.
44. Klockars M, Reitamo S. Tissue distribution of lysozyme in man. *J Histochem Cytochem* 1975; 932-940.



45. Pruzanski W, Santo S. The diagnostic value of lysozyme (muramidase) estimation in biological fluids. *Am J Med Sci* 1969; 258:405-415.
46. Hayselett JP, Perillie PE, Finch SC. Urinary muramidase and renal disease: Correlation with renal histology and implication for the mechanism of enzymuria. *N Engl J Med* 1968; 506-512.
47. Pascual RS, Gee JBL, Finch SC. Usefulness of serum lysozyme measurement in diagnosis and evaluation of sarcoidosis. *N Engl J Med* 1973; 289:1074-1076.
48. Perillie PE, Khan K, Finch SC. Serum lysozyme in pulmonary tuberculosis. *Am J Med Sci* 1973; 265:297-302.
49. Osserman EF, Lawlor DP. Serum and urinary lysozyme (muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia. *J Exp Med* 1966; 124:921-952.
50. Klockars M, Petterson T, Riska et al. Pleural fluid lysozyme in tuberculous and nontuberculous pleuresy. *Br Med J* 1976; 1:1381.
51. Wu KK, Burns DA. Pleural fluid lysozyme in human disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1976; 152: 132-134.
52. Light RW. *Pleural diseases*. Philadelphia: Lea & Febiger 1983; 47.
53. Klockars M, Petterson T, Riska H et al. Pleural fluid lysozyme in human disease. *Arch Intern Med* 1979; 139:73-77.
54. Asseo PP, Tracopoulos GD, Kotsoulou-Foustaki V. Lysozyme (muramidase) in pleural effusions and serum. *Am J Clin Pathol* 1982; 78:763-767.
55. Vereá Hernando H, Masa Jiménez JF, Domínguez Juncal et al. Meaning and diagnostic value of determining the lysozyme level of pleural fluid. *Chest* 1987; 91:342-345.
56. Petterson T, Klockars M, Hellstron PE et al. Lysozyme in pleural effusions. *Chest* (en prensa).
57. Tahara E, Ito, Shimamoto F et al. Lysozyme in human gastric carcinoma: a retrospective immuno histochemical study. *Histopathol* 1982; 6:409-421.