

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**

**"CAROL DAVILA" BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ**

**DOMENIUL MEDICINĂ**

**STUDIUL CLINICO**

**MORFOLOGIC AL REVĂRSATELOR**

**PLEURALE DE ETIOLOGIE**

**TUBERCULOASĂ**

**REZUMATUL**

**TEZEI DE DOCTORAT**

*Conducător de Doctorat:*

Profesor Universitar Dr Iancu Emil PLEȘEA

*Student-Doctorand:*

Dragoș NICOLOSU

**2021**

# CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

<b><u>CUPRINS</u></b> .....	<b>I</b>
<b><u>LISTA DE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE</u></b> .....	<b>IX</b>
<b><u>ABREVIERI</u></b> .....	<b>XI</b>
<b><u>INTRODUCERE</u></b> .....	<b>1</b>
<b><u>STADIUL CUNOȘTERII</u></b> .....	<b>4</b>
<b><u>CAPITOLUL I REVĂRSATELE PLEURALE</u></b> .....	<b>5</b>
<u>DEFINIȚII</u> .....	6
<u>CLASIFICĂRI</u> .....	7
<u>DIFERENȚIEREA EXUDAT-TRANSSUDAT</u> .....	7
<u>EVALUAREA REVĂRSATULUI PLEURAL</u> .....	7
<u>Recoltarea lichidului pleural</u> .....	7
<u>Examenul lichidului pleural</u> .....	8
<u>Examenul macroscopic</u> .....	8
<u>Determinări biochimice din Lichidul Pleural</u> .....	8
<u>Examenul citologic al lichidului pleural</u> .....	11
<u>Examenul bacteriologic al lichidului pleural</u> .....	12
<u>Examenul morfologic al pleurei</u> .....	12
<u>Pleuroscopia</u> .....	12
<u>Biopsia pleurală transtoracică</u> .....	12
<u>Investigații complementare</u> .....	13
<u>CAUZELE REVĂRSATELOR PLEURALE</u> .....	13
<b><u>CAPITOLUL II PLEUREZIA TUBERCULOASĂ</u></b> .....	<b>17</b>
<u>TUBERCULOZA</u> .....	18
<u>PLEUREZIA TUBERCULOASĂ</u> .....	19
<u>Breviar clinico-epidemiologic</u> .....	19
<u>Incidență</u> .....	19
<u>Vârsta pacienților</u> .....	21
<u>Coexistența cu HIV</u> .....	22
<u>Tablou clinic</u> .....	23
<u>Evoluție, complicații</u> .....	24

<u>Patogeneză</u> .....	24
<u>Tablou morfologic</u> .....	25
<u>Leziunile foitelor pleurale</u> .....	25
<u>Lichidul pleural</u> .....	28
<u>Metode de diagnostic</u> .....	29
<u>Examenul morfologic</u> .....	31
<u>Examenul biochimic al lichidului pleural</u> .....	34
<u>Teste moleculare</u> .....	35
<u>Biomarkeri</u> .....	36
<u>Examene imagistice</u> .....	41
<b><u>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</u></b> .....	<b>43</b>
<b><u>IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVE GENERALE</u></b> .....	<b>44</b>
<u>IPOTEZA DE LUCRU</u> .....	XLV
<u>OBIECTIVELE GENERALE</u> .....	XLV
<b><u>CAPITOLUL III MATERIAL ȘI METODE</u></b> .....	<b>46</b>
<u>MATERIALUL STUDIAT</u> .....	47
<u>METODE DE LUCRU</u> .....	48
<u>Tipul de studiu și algoritmul de investigație</u> .....	48
<u>Parametrii evaluați</u> .....	48
<u>Tehnicile de investigare utilizate</u> .....	49
<u>Studiul imagistic</u> .....	49
<u>Studiul Citologic</u> .....	49
<u>Studiul histopatologic</u> .....	51
<u>Achiziția imaginilor microscopice</u> .....	52
<u>Evaluarea cantitativă a celularității lichidului pleural</u> .....	53
<u>Prelucrarea și interpretarea datelor</u> .....	57
<u>Scalele de stratificare a parametrilor</u> .....	58
<u>Indicatori statistici</u> .....	64
<u>Indici și coeficienți de corelare statistică</u> .....	65
<u>Determinarea Senzitivității și Specificității</u> .....	67
<u>Trasarea reprezentărilor grafice ale datelor prelucrate</u> .....	68

<b><u>CAPITOLUL IV STUDIUL CLINICO-BIOLOGIC ȘI</u></b>	
<b><u>CITOLOGIC</u></b> .....	<b>69</b>
<u>PROFILUL CLINIC</u> .....	70
<u>Afectarea pleurei</u> .....	70
<u>Evoluția temporală</u> .....	70
<u>Genul pacienților</u> .....	71
<u>Vârsta pacienților</u> .....	71
<u>Mediul de proveniență</u> .....	72
<u>Tip de caz</u> .....	72
<u>Tip constituțional</u> .....	73
<u>Antecedente heredocolaterale de TB</u> .....	73
<u>Antecedente personale patologice</u> .....	74
<u>PROFILUL BIOLOGIC SANGUIN</u> .....	76
<u>VSH</u> .....	76
<u>Hemoleucograma</u> .....	77
<u>Hemoglobina</u> .....	77
<u>Hematocritul</u> .....	79
<u>Leucocite</u> .....	80
<u>Limfocite</u> .....	81
<u>Polimorfonuclearele Neutrofile (PMN)</u> .....	82
<u>Glicemia</u> .....	83
<u>LDH Serică</u> .....	84
<u>PROFILUL BIOLOGIC AL LP</u> .....	85
<u>Glucidele în LP</u> .....	85
<u>Proteinele în LP</u> .....	86
<u>LDH în LP</u> .....	87
<u>ADA în LP</u> .....	88
<u>BK în frotiul din LP</u> .....	89
<u>BK în cultura din LP</u> .....	90
<u>PROFILUL MORFOLOGIC AL LP</u> .....	90
<u>Localizare</u> .....	90
<u>Localizarea la nivelul cavităților pleurale</u> .....	90
<u>Extensie</u> .....	91

<u>Cantitatea de LP extrasă</u> .....	92
<u>Aspect Macroscopic</u> .....	94
<u>Diagnosticul Citologic calitativ</u> .....	95
<u>Evaluarea Rezultatului Examenului Citologic</u> .....	95
<u>Evaluarea Diagnosticului Citologic</u> .....	96
<u>Evaluarea cantitativă, morfometrică</u> .....	98
<u>Numărul total de celule în LP (fără Eritrocite)</u> .....	98
<u>Limfocitele în LP</u> .....	100
<u>PMN în LP</u> .....	102
<u>Celulele mezoteliale în LP</u> .....	103
<u>Eritrocitele în LP</u> .....	105

## **CAPITOLUL V STUDIUL CLINICO-HISTOPATOLOGIC**

.....	<b>107</b>
<u>DATELE CLINICE</u> .....	108
<u>Afectarea pleurei</u> .....	108
<u>Evoluția temporală</u> .....	108
<u>Sexul și Vârsta</u> .....	109
<u>Suspiciunea clinică</u> .....	109
<u>CARACTERISTICILE MORFOLOGICE</u> .....	110
<u>Localizarea leziunilor</u> .....	110
<u>Extensia leziunilor</u> .....	111
<u>Morfologia microscopică</u> .....	111
<u>Celularitatea Granuloamelor</u> .....	111
<u>Necroza</u> .....	113
<u>Fibroza</u> .....	115
<u>Gradul de diferențiere</u> .....	117
<u>Granuloamele atipice</u> .....	119

## **CAPITOLUL VI DISCUȚII**.....**120**

<u>CORELAȚII ÎNTRE PARAMETRII STUDIATI</u> .....	121
<u>Parametrii Clinici</u> .....	121
<u>Corelația Sex - Vârsta</u> .....	121
<u>Corelația Sex – Tip Constituțional</u> .....	122
<u>Corelația Vârsta – Tip Constituțional</u> .....	123

<u>Parametri biologici sanguini</u> .....	124
<u>Corelația Hemoglobină / Hematocrit</u> .....	124
<u>Corelația Leucocite / Limfocite</u> .....	125
<u>Corelația Leucocite / PMN</u> .....	125
<u>Corelația Limfocite / PMN</u> .....	126
<u>Parametri determinați în sânge și LP</u> .....	127
<u>Corelația Glicemie – Glucoză în LP</u> .....	127
<u>Corelația LDH S – LDH LP</u> .....	127
<u>Corelația Leucocite S – Leucocite LP</u> .....	128
<u>Corelația Limfocite S – Limfocite LP</u> .....	129
<u>Corelația PMN S – PMN LP</u> .....	129
<u>Parametri determinați în LP</u> .....	130
<u>Corelația Proteine / Glucoză în LP</u> .....	130
<u>Corelația Proteine / LDH în LP</u> .....	131
<u>Corelația Proteine / ADA în LP</u> .....	131
<u>Corelația Glucoză / LDH în LP</u> .....	132
<u>Corelația Glucoză / ADA în LP</u> .....	132
<u>Corelația LDH / ADA în LP</u> .....	133
<u>Celularitatea Lichidului Pleural</u> .....	134
<u>Corelația Număr Total de celule / Celule – Hematii</u> .....	134
<u>Corelația Celule - Hematii / Leucocite</u> .....	135
<u>Corelația Celule - Hematii / Celule Mezoteliale</u> .....	135
<u>Corelația Leucocite / Limfocite</u> .....	136
<u>Corelația Leucocite / PMN</u> .....	137
<u>Corelația Leucocite / Celule Mezoteliale</u> .....	137
<u>Corelația Limfocite / PMN</u> .....	138
<u>Corelația Limfocite / Celule Mezoteliale</u> .....	139
<u>Corelația PMN / Celule Mezoteliale</u> .....	139
<u>Corelația Număr Total de celule / Hematii</u> .....	140
<u>Corelația Număr Celule fără Hematii / Hematii</u> .....	141
<u>Corelația Hematii / Limfocite</u> .....	141
<u>Corelația Hematii / PMN</u> .....	142
<u>Corelația Hematii / Celule Mezoteliale</u> .....	143
<u>Profilul corelațiilor dintre parametri</u> .....	143

<u>Parametri biologici și celulari sanguini</u> .....	143
<u>Parametri biologici și celulari sanguini și din LP</u> .....	145
<u>Parametri biologici din LP</u> .....	145
<u>Parametri celulari din LP</u> .....	145
<u>DIAGNOSTIC CITOLOGIC VS. DIAGNOSTIC MORFOMETRIC</u> .....	146
<u>COMPARAȚII CU ALTE STUDII</u> .....	148
<u><i>Profilul clinic</i></u> .....	148
<u>Afectarea pleurală</u> .....	148
<u>Evoluția temporală</u> .....	150
<u>Distribuția în funcție de Genul pacienților</u> .....	152
<u>Distribuția în funcție de Vârsta pacienților</u> .....	153
<u>Indicele de masă corporală</u> .....	155
<u>Suspiciunea clinică</u> .....	155
<u>Antecedentele personale patologice ale pacienților</u> .....	156
<u><i>Profilul Biologic sanguin</i></u> .....	158
<u>Hemoglobina</u> .....	158
<u>Hematocritul</u> .....	158
<u>Proteine serice</u> .....	159
<u>LDH seric</u> .....	159
<u><i>Profilul Biologic al LP</i></u> .....	160
<u>Proteinele în LP</u> .....	160
<u>Glucoza în LP</u> .....	161
<u>LDH în LP</u> .....	162
<u>ADA în LP</u> .....	163
<u>Identificarea BK</u> .....	164
<u><i>Profilul morfologic</i></u> .....	165
<u>Localizarea leziunilor</u> .....	165
<u>Tipul/Extensia leziunilor</u> .....	166
<u>Evaluarea aspectului macroscopic al LP</u> .....	168
<u>Evaluarea populațiilor celulare din LP</u> .....	168
<u>Celularitatea granulomului</u> .....	178
<u>Necroza</u> .....	179
<u>Fibroza</u> .....	179
<u>Gradul de diferențiere</u> .....	181

<b><u>CONCLUZII</u></b> .....	<b>182</b>
<b><u>BIBLIOGRAFIE</u></b> .....	<b>184</b>
<b><u>ANEXE</u></b> .....	<b>199</b>

## **CUVINTE CHEIE**

Pleură, Lichid pleural, Tuberculoză, Citologie, Histopatologie.

# STADIUL CUNOAȘTERII

## INTRODUCERE

Dacă vi s-ar cere să numiți primii trei ucigași infecțioși din lumea de azi, probabil că v-ați gândi mai întâi la SIDA (sindromul imunodeficienței dobândite), flagelul care infectează aproape 40 de milioane de oameni din întreaga lume și a revendicat viața a aproape 3 milioane în 2005 numai. S-ar putea să ghiciți malaria, care a lovit până la 300 de milioane de oameni anual și omoară 1% din ei, făcând-o cea de-a treia cea mai periculoasă boală din lume. Cu toate acestea, este puțin probabil să vă gândiți la cea de-a doua afecțiune a lumii, tuberculoză - o boală adesea ignorată care trece prin aerul pe care îl respirăm și care a infectat aproximativ 2 miliarde de oameni, aproximativ o treime din populația lumii [WHO Global Tuberculosis Report 2019].

În ciuda caracterului distructiv, tuberculoza a avut o anumită reputație plină de farmec, deoarece mulți [artiști](#) cunoscuți au suferit din cauza ei.

Tuberculoza rămâne din nefericire, în continuare, o problemă majoră de sănătate publică pentru cea mai mare parte a țărilor lumii. Aproximativ o treime din populație este afectată de infecția latentă cu *Mycobacterium tuberculosis*. Potrivit Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), în 2018, 10 milioane de persoane (5,7 milioane de bărbați, 3,2 milioane de femei și 1,1 milioane de copii) s-au îmbolnăvit de tuberculoză și s-au înregistrat 1,5 milioane de decese [WHO Global Tuberculosis Report 2019].

Pleurezia tuberculoasă este a doua cea mai frecventă formă de tuberculoză extrapulmonară (după implicarea limfatică) și este cea mai frecventă cauză de revărsare pleurală în zonele în care tuberculoza este endemică [Zhai et al 2016]. Efuzia pleurală tuberculoasă este sinonimă cu termenul pleurezie tuberculoasă.

Revărsatele pleurale tuberculoase pot apărea în asociere cu tuberculoza pulmonară primară sau secundară. La adulți, cel mai adesea apar ca formă de tuberculoză secundară.

## REVĂRSATELE PLEURALE

Revărsatul lichidian intrapleural sau colecția lichidiană intrapleurală reprezintă acumularea în exces a unei cantități de lichid în spațiul intrapleural care, în acest fel,

din spațiu virtual devine real, prin ruperea echilibrului dintre formarea și absorbția lichidului [Olaru et al 2005].

Revărsatele lichidiene pleurale sunt clasificate atât după criteriile morfologice cât și după criteriile fiziopatologice. Efuziile pleurale sunt fie transudate, fie exudate, bazate pe caracteristicile biochimice ale fluidului, care reflectă de obicei mecanismul fiziologic al formării acestuia.

Examenul lichidului pleural începe cu un *examen macroscopic* urmat de numeroase alte teste de diagnostic.

**Pleuroscopia** permite vizualizarea directă a celor două foițe pleurale și recoltarea de fragmente pleurale din zonele cele mai modificate. Biopsia pleurală transtoracică se efectuează după o tehnică similară cu a toracentezei.

## **PLEUREZIA TUBERCULOASĂ**

Tuberculoza (TB) este o boală infecțioasă cu caracter endemic, transmisibilă, cu evoluție cronică produsă de complexul *Mycobacterium tuberculosis* care cuprinde: *Mycobacterium tuberculosis* de tip uman (bacilul Koch), *Mycobacterium bovis* și *Mycobacterium africanum*. Se estimează că peste 1,7 miliarde de persoane (aproximativ 25% din populația lumii) sunt infectate cu *M. tuberculosis* [WHO.Global Tuberculosis Report 2019]. Pleurezia tuberculoasă (PLTB) este prima sau a doua cea mai comună formă de tuberculoză extrapulmonară, precum și principala cauză a revărsării pleurale în multe țări. PLTB poate afecta orice grup de vârstă, deși există vârful de incidență la 20 de ani, 40 de ani și la populația vârstnică [Berger și colab 1973; Epstein și colab 1987].

Din punct de vedere morfologic, PLTB este un proces inflamator particular caracterizat atât printr-o reacție vasculară de tip exudativ, cu hiperemie și formarea unui foarte abundent exudat predominant de fibrină la nivelul cavității pleurale cât și printr-o reacție celulară de tip proliferativ, cu formarea de de capilare de neoformație care vor susține trofic componenta celulară a complexului inflamator ce va forma foliculii (granuloamele) tipici inflamației tuberculoase la nivelul foițelor parietală și viscerală ale pleurei. LP este aproape întotdeauna de tip exudativ, constituit, în principal, din ser, fibrină și în general, cu un aspect caracteristic galben-citrin și cu predominanța limfocitelor mononucleare. Adesea, examenul microscopic al frotiurilor și culturile din LP pentru BAAR sunt negative datorită hipersensibilității întârziate.

Diagnosticul de PLTB poate fi stabilit prin demonstrarea prezentei Mycobacterium tuberculosis în lichidul pleural sau într-un specimen de biopsie pleurală [Pai M et al 2016].

## **CONTRIBUȚIA PERSONALĂ**

### **MATERIAL ȘI METODE**

**Baza de studiu** a prezentei lucrări a fost constituită din două loturi la care investigațiile complexe, clinice și paraclinice precum și proba terapeutică au reliefat etiologia tuberculoasă.:

**Lotul 1** – format din **85 de pacienți** cu revărsate pleurale internați în Spitalul de Pneumoftiziologie „Tudor Vladimirescu” din comuna Runcu, Județul Gorj pe o perioadă de cinci ani (2009 – 2013), lot selectat dintr-un grup mai mare de 322 de pacienți internați în aceeași instituție medicală cu diagnosticul de revărsat pleural, criteriul de selecție fiind existența a cel puțin unei puncții pleurale efectuate în timpul internării în scop diagnostic și/sau terapeutic.

**Lotul 2** – format din **39 de pacienți** internați în Clinica de Chirurgie Toracică a Spitalului Clinic Județean de Urgență din Craiova în perioada 1990-2015 și diagnosticați în Serviciul de Anatomie Patologică al aceluiași spital cu leziuni tuberculoase pleurale. Grupul face parte dintr-un lot mult mai mare de 841 de pacienți diagnosticați cu leziuni tuberculoase extrapulmonare în același serviciu în perioada amintită.

Materialul de studiu a fost reprezentat de două categorii de surse de date:

- Documentele de evidență medicală ale pacienților internați,
- Material biologic uman recoltat de la pacienții internați.

**Tipul de studiu și algoritmul de investigație.** Studiul a fost de tip retrospectiv, incluzând pacienții internați în perioadele amintite și a fost conceput să se deruleze în trei direcții principale:

1. Studiul contextului clinico-biologic al apariției revărsatului pleural TB
2. Studiul biologic și morfologic al revărsatului pleural TB
3. Studiul corelațiilor clinico morfologice la pacienții cu revărsat pleural TB

**Prelucrarea și interpretarea datelor.** Prelucrarea datelor preliminare de la cazurile introduse în baza de date a fost efectuată cu ajutorul aceluiași modul Microsoft Excel din pachetul de programe Microsoft Office 2010 professional.

## **STUDIUL CLINICO-BIOLOGIC ȘI CITOLOGIC**

Grupul de leziuni tuberculoase care au implicat structuri pleurale și care au alcătuit Lotul I au reprezentat peste un sfert din revărsatele pleurale internate, puncționate și diagnosticate inclusiv cu ajutorul examenului citologic în cadrul Spitalului de Pneumoftiziologie „Tudor Vladimirescu”. Marea majoritate a pacienților incluși în studiu au fost cazuri noi de îmbolnăvire cu pleurezie tuberculoasă. Este de remarcat, totuși, și procentul semnificativ de pacienți la care afectarea tuberculoasă a pleurei a fost o recidivă.

Una din determinările biologice de rutină din sângele circulant în cazul suspiciunii unui proces inflamator este viteza de sedimentare a hematiilor (VSH). Marea majoritate a pacienților incluși în studiu au prezentat valori crescute ale VSH-ului.

Pentru evaluarea conținutului în proteine a LP nu a fost întrebuițat criteriul din algoritmul lui Light de definire a exudatului pleural [Light 2002] și anume raportul dintre proteinele din LP și cele din ser trebuie să fie  $> 0.5$  ci au fost utilizate două alte criterii în combinație și anume: valoarea proteinelor din LP  $> 2.9$  g/dL [Boka 2018] și diferența dintre valorile proteinelor serice și a celor din LP  $< 3.1$  g/dL [Romero-Candeira et al 2001] pentru a preîntâmpina clasificarea greșită a mai mult de 10% din exudate și 15% din transsudate [Mercer et al 2019].

Valorile Proteinelor din LP au variat într-o plajă extrem de largă, având limita inferioară de 1,24 g/dL iar limita superioară de 6,9 g/dL. Valorile ADA din LP au variat într-o plajă cu limite largi (limita inferioară de 19 UI/L iar limita superioară de 88 UI/L).

Revărsatele pleurale studiate au fost de cele mai multe ori unilaterale dar au existat câteva cazuri cu interesarea ambelor cavități pleurale.

Următorul pas a fost analiza diagnosticelor sugerate de profilul celular evaluat calitativ la examinarea frotiurilor din LP de către medicul citolog.

Astfel am putut observa că în trei sferturi din cazurile studiate complexul celular identificat pe frotiul de lichid pleural a sugerat un proces inflamator cronic, în care populația celulară a fost dominată iar uneori chiar alcătuită exclusiv din limfocite în general mature dar și tinere. Este de remarcat de asemenea faptul că, puțin peste 60% din aceste cazuri (39 de cazuri), afluxul limfocitar în lichidul pleural a fost însoțit de o reacție proliferativă a celulelor mezoteliale, celule reactive care au fost prezente în LP și drept urmare au putut fi identificate pe frotiu.

## STUDIUL CLINICO-HISTOPATOLOGIC

Grupul de leziuni tuberculoase care au implicat structuri pleurale și care au alcătuit Lotul II au reprezentat doar o mică parte din întreaga serie de determinări extrapulmonare identificate în Serviciul de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic Județean din Craiova într-o perioadă de 25 de ani, semnificativ mai puțin de 10% din cazuri, toate cazurile fiind internate la Clinica de Chirurgie Toracică. La majoritatea pacienților (două treimi), reacția inflamatorie a relevat granulomul tipic ce conține celule gigante Langhans (CGL), de obicei în centrul lor. Partea distructivă a conflictului inflamator în structurile pleurale a prezentat, în mai mult de trei sferturi din cazuri, aspectul morfologic clasic al necrozei fine granulare, acidofile (NA), plasat de obicei în centrul nodulului tuberculos.

## DISCUȚII

### PARAMETRII CLINICI

**Corelația Sex – Vârstă.** Analiza statistică a corelației dintre sexul pacienților și vârsta acestora nu a validat diferențele minore de distribuție a bolii între cele două sexe observate la Lotul I, în schimb, a validat ca foarte înalt semnificative diferențele observate la cel de-al doilea lot (Tabelul 1).

**Tabelul 1: Rezultatele verificării statistice**

Testul $\chi^2$	Observed value	Critical value	DF	p-value
Lotul I	3,9018	7,8147	3	0,2723
Lotul II	21,3674	9,4877	4	<b>0,0003</b>

**Corelația Sex – Tip Constituțional.** Diferențele de distribuție a diferitelor tipuri constituționale la cele două sexe nu au fost validate statistic (Tabelul 2).

**Tabelul 2: Rezultatele verificării statistice**

Testul $\chi^2$	Observed value	Critical value	DF	p-value
Valori	1,0654	7,8147	3	0,7854

**Corelația Vârstă – Tip Constituțional.** Între cei doi parametri clinici există o corelație directă înalt semnificativă, indicele de masă corporală crescând pe măsură ce crește și vârsta pacienților (Tabelul 3).

**Tabelul 3: Rezultatele verificării statistice**

Testul de Corelație Pearson			
Coeficienți	Correlation matrix	p-value	Coefficients of determination (R <sup>2</sup> ):
Valori	0,3689	<b>0,0005</b>	0,1361

## PROFILUL CORELAȚIILOR DINTRE PARAMETRII SANGUINI ȘI LP

Testele de corelație dintre diferiții parametri biologici și celulari sanguini, dintre parametri biologici corespunzători din sânge și LP precum și între parametri biologici și celulari ai LP au scos în evidență câteva aspecte interesante (Tabelul 4).

**Tabelul 4: Tipurile de corelație între parametri studiați**

Parametri	Correlation matrix	p-value	Coefficients of determination (R2):
<b>(I) SÂNGE</b>			
Hb/Ht	0,8840	< 0,0001	0,7814
Leucocite/Limfocite	-0,3846	0,0003	0,1480
Leucocite/PMN	0,3762	0,0004	0,1415
Limfocite/PMN	-0,9540	< 0,0001	0,9100
<b>(II) SÎNGE / LICHID PLEURAL</b>			
Glicemie/Glucoza LP	0,1399	0,2070	0,0196
LDH S/LDH LP	0,1909	0,1217	0,0365
Leucocite S/Leucocite LP	-0,058	0,603	0,003
Limfocite S/Limfocite LP	0,185	0,093	0,034
PMN S/PMN LP	-0,100	0,367	0,010
<b>(III) LICHID PLEURAL – BIOLOGIC</b>			
Proteine/Glucoză	0,1988	0,0989	0,0395
Proteine/LDH	0,1491	0,1786	0,0222
Proteine/ADA	-0,1784	0,1396	0,0318
Glucoză/LDH	-0,0653	0,5909	0,0043
Glucoză/ADA	-0,1438	0,2348	0,0207
LDH / ADA	0,2260	0,0599	0,0511
<b>(IV-A) LICHID PLEURAL – CELULARITATE</b>			
Celule Total/Celule Nucleate	0,6257	< 0,0001	0,3914
Celule Total/Hematii	0,6770	< 0,0001	0,4583
Celule Nucleate/Leucocite	0,9942	< 0,0001	0,9885
Celule Nucleate/Celule mezoteliale	0,4580	< 0,0001	0,2098
<b>(IV-B) LICHID PLEURAL – CELULARITATE</b>			
Leucocite/Limfocite	0,9891	< 0,0001	0,9783
Leucocite/PMN	0,2419	0,0276	0,0585
Leucocite/Celule mezoteliale	0,3601	0,0008	0,1297
<b>(IV-C) LICHID PLEURAL – CELULARITATE</b>			
Limfocite/PMN	0,0964	0,3859	0,0093
Limfocite/Celule mezoteliale	0,3425	0,0015	0,1173
PMN/Celule mezoteliale	0,1775	0,1083	0,0315
<b>(IV-D) LICHID PLEURAL – CELULARITATE</b>			
Hematii/Celule Nucleate	-0,1506	0,1743	0,0227
Hematii/Limfocite	-0,1408	0,2041	0,0198
Hematii/PMN	-0,0823	0,4595	0,0068
Hematii/Celule Mezoteliale	-0,0709	0,5240	0,0050

**Parametri biologici și celulari sanguini.** La pacienții cu revărsat pleural de etiologie tuberculoasă s-a observat o interdependență strânsă între valorile hemoglobinei și cele ale hematocritului. Astfel, indiferent dacă au fost bărbați sau femei, cei mai mulți pacienți au avut în paralel valori scăzute ale hemoglobinei și hematocritului sub pragurile considerate normale. În ceea ce privește populațiile celulare sanguine, s-a putut observa o disociere între diferitele tipuri de celule. În schimb, limfocitele au avut o variație inversă celei a PMN și deci implicit și celei a leucocitelor în general, valorile lor sanguine fiind mai degrabă scăzute.

**Parametri biologici și celulari sanguini și din LP.** Diferenții parametri biologici și celulari prezenți atât în sânge cât și în LP au arătat numai tendințe de corelare, unele directe altele inverse. Astfel valorile glucozei sanguine și din LP și valorile LDH seric și din LP au avut tendința de corelare directă evoluția într-un sens a componentei serice fiind însoțită de evoluția în același sens a componentei din LP.

La compartimentele celulare, s-a putut constata că leucocitele și PMN din compartimentul sanguin au avut tendințe de evoluție divergente cu corespondentele lor din compartimentul pleural. În schimb, limfocitele din cele două compartimente au arătat tendința de a evolua în același sens, împreună.

**Parametri biologici din LP.** În compartimentul biologic al LP, s-a observat că valorile proteinelor au avut tendința la evoluție paralelă cu evoluția valorilor glucozei și LDH, în general de creștere. De asemenea, valorile LDH și ADA au avut tendința de evoluție în același sens, în general de creștere. Glucoza, în schimb, a avut o tendință de evoluție divergentă în raport cu evoluțiile LDH și ADA. Aceeași tendință au manifestat-o și valorile proteinelor în raport cu valorile ADA (Tabelul 4-III):

**Parametri celulari din LP.** Deoarece am numărat toate celulele existente în câmpul microscopic pe frotiuri am făcut raportarea între toate categoriile la care s-a făcut determinarea. Astfel am constatat că evoluția numărului total de celule este influențată atât de evoluția numărului de celule nucleate cât și de evoluția numărului de hematii. De asemenea, evoluția numărului de celule nucleate este în strânsă legătură cu evoluția numărului de leucocite dar și cu cea a numărului de celule mezoteliale, în ambele cazuri numărul de celule evoluând în același sens. Am observat de asemenea că numărul de leucocite este influențat separat de numărul fiecăruia din subtipurile lor – limfocite și PMN – dar și că numărul de celule mezoteliale evoluează în același sens cu numărul de leucocite. Subtipurile de celule leucocitare, în schimb, prezintă numai o tendință de evoluție în același sens unele cu

altele (limfocite cu PMN). Tot la fel, PMN au tendința de a evolua în același sens cu celulele mezoteliale. Numai evoluția numărului de limfocite în raport cu evoluția numărului de celule mezoteliale face excepție, ambele evoluând în același sens.

În sfârșit, numărul de hematii pare să aibă o evoluție divergentă cu cea a fiecăruia din tipurile de celule nucleate prezente pe frotiu, existând tendința de a scădea când fiecare din acestea cresc și invers.

## DIAGNOSTIC CITOLOGIC VS DIAGNOSTIC MORFOLOGIC

Analiza corelației dintre diagnosticele citologice, calitative a scos în evidență corespondențe evidente între cele două tipuri de evaluări, suprapunere validată și de aparatul statistic (Tabelul 5).

**Tabelul 5: Rezultatele verificării statistice**

Testul $\chi^2$	Observed value	Critical value	DF	p-value
Valori	17,6613	16,9190	9	<b>0,0393</b>

Calcularea sensibilității și specificității estimării citologice calitative în raport cu evaluarea cantitativă morfometrică efectuată a relevat valori semnificative pentru fiabilitatea diagnosticului citologic calitativ de 98% și respectiv 88%. Calcularea valorilor predictivă pozitivă și predictivă negativă a arătat însă procente mai mici ale predicției examenului citologic (Tabelul 6). În general a existat tendința la supraevaluarea densității celulare în raport cu densitatea reală, determinată morfometric.

**Tabelul 6: Diagrama de calculare a Specificității și Sensitivității**

		Examen Citologic Morfometric		
		Diagnostic +	Diagnostic -	
Examen Citologic Calitativ	Rezultat +	<b>Pozitiv Real</b> (PR) = a 57	<b>Fals Pozitiv</b> (FP) = c 22	<b>Valoare Predictivă Pozitivă</b> PR / (PR + FP) a / (a + c) = <b>72%</b>
	Rezultat -	<b>Fals Negativ</b> (FN) = b 1	<b>Negativ Real</b> (NR) = d 3	<b>Valoare Predictivă Negativă</b> NR / (FN + NR) d / (b + d) ≈ <b>75%</b>
		<b>Senzitivitate</b> PR / (PR + FN) a / (a + b) ≈ <b>98%</b>	<b>Specificitate</b> NR / (FP + NR) c / (c + d) = <b>88%</b>	

Un punct important al studiului nostru a fost evaluarea gradului de corespondență între modul de stabilire a diagnosticului citologic clasic de apreciere

calitativă a populațiilor celulare prezente în lichidul pleural pe d-o parte și cuantificarea exactă, obiectivă, asistată de calculator a aceluiași populații celulare stabilite la examinarea frotiurilor efectuate din lichidele pleurale ale pacienților incluși în studiu, pe de alta parte, în sensul suprapunerii semnificative între categoriile fiecărui tip de diagnostic.

## **COMPARAȚII CU ALTE STUDII**

Trebuie subliniat de la început că studiul dedicat aspectelor morfologice histopatologice ale pleureziilor tuberculoase a avut ca principală particularitate folosirea, așa cum am menționat deja, numai a înregistrărilor și materialelor (preparate histopatologice și blocuri de parafină) aparținând Serviciului de Anatomie Patologică, fără feedback de la clinicieni despre alte aspecte ale statusului pacientului. Pentru fiecare dintre parametrii studiați, s-a încercat găsirea unor date din literatură drept termen de comparație. Sarcina nu a fost întotdeauna ușoară, având în vedere eterogenitatea abordării TB pleurale de către diferiți autori.

Raportările prezenței revărsatului pleural tuberculos au fost făcute la tipuri de loturi de pacienți diferite. Astfel, incidența pleureziilor din Lotul I a fost raportată la studii similare care au analizat loturi de revărsate pleurale de diverse etiologii între care și cea tuberculoasă. Eterogenitatea loturilor cu care am făcut comparație a fost extrem de mare, pornind de la loturi de revărsate pleurale care nu au conținut nici un caz cu etiologie tuberculoasă și mergând până la loturi în care marea majoritate a cazurilor au fost pleurezii tuberculoase.

Prin urmare, nu a putut fi definit niciun model de distribuție. Astfel, lotul nostru a avut particularitatea reprezentării unui mic procentaj din determinările extrapulmonare, cazuri descoperite într-o unitate spitalicească mare – spital județean –, cu aproape toate tipurile de clinici chirurgicale, dar plasată într-o zonă geografică a Europei (România) cu o rată semnificativă de incidență a TB (72 % Populație / an) [WHO 2018].

Revărsatele pleurale TB au fost întâlnite, în toate studiile consultate, mai frecvent la bărbați, cu cel mai mic raport (M/F) de 1,22 într-un studiu spaniol [Valdés et al 2010] și cel mai mare raport M/F de 4,57 într-un studiu chinez [Yang et al 2021]. În ambele loturi studiate de noi, raportul M/F a fost supraunitar.

Referințele legate de evaluarea diversilor parametri biologici ai lichidului pleural au fost mult mai numeroase.

Astfel, valoare medie a concentrației proteinelor în LP a variat de la 3,7g/dL, într-un studiu chinezesc [Yang et al 2021] și 5,3 g/dL într-un studiu italian [Antonangelo et al 2007]. În studiul nostru atât valoarea medie cât și întregul interval de valori în care s-au grupat majoritatea cazurilor (determinat de STDEV în jurul valorii medii) s-au plasat deasupra valorii prag de 2,9 g/Dl. Valorile medii ale LDH pleural identificate în literatură au fost, cu o singură excepție (un studiu indian – Gupta et al 2010), mai mari decât valoarea considerată prag de 185 U/L, în patru studii depășind chiar valoarea de 1000 U/L [Antonangelo et al 2007; Çirak et al 2011; Reddy et al 2019; Choi et al (II) 2016]. În studiul nostru, atât valoarea medie cât și majoritatea valorilor individuale ale LDH în LP s-au situat semnificativ peste pragul de 185 U/L.

## **CONCLUZII**

Studiul nostru, cuprinzând o analiză atât individuală cât și comparativă a profilurilor clinic, biologic și morfologic al revărsatelor pleurale de etiologie tuberculoasă, a condus la câteva concluzii care pot avea importanță și aplicabilitate în practica medicală:

Cu toate că există opinii care susțin că nu există un ghid formal pentru diagnosticul și tratamentul pleureziei tuberculoase, se poate contura totuși, și studiul nostru a confirmat-o, un profil clinico-morfologic al pacientului cu revărsat pleural tuberculos. Astfel, la un pacient, de regulă bărbat cu vârsta cuprinsă între 25 și 44 de ani la care se identifică clinic și imagistic un revărsat pleural, aproape întotdeauna unilateral cu extensie moderată sau redusă, liber în cavitatea plurală, cu un lichid pleural cu aspect serocitrin, cu caracteristici biologice de exudat, cu valori crescute ale ADA și bogat în limfocite, etiologia tuberculoasă este aproape certă.

Certitudinea o oferă identificarea agentului patogen în lichidul pleural (frotiu sau/și cultură) sau în țesutul pleural (identificare directă sau cultură, situații cu valori în general reduse ale procentului de pozitivitate sau cel mai sigur identificarea, pe fragmentele de țesut pleural obținute prin biopsie, a tabloului morfologic caracteristic al reacției inflamatorii declanșate la nivelul pleurei de conflictul cu bacilul tuberculos.

Raportarea examenului citologic la cel morfometric a arătat că examenul citologic calitativ este fiabil pentru diagnostic, însă, în măsura în care este posibil, se recomandă introducerea determinării cantitative, obiective a populațiilor celulare din lichidul pleural.

Cu toate acestea, există situații, rare, în care examenul citologic poate să nu fie concludent în ceea ce privește stabilirea etiologiei tuberculoase. Astfel de situații demonstrează că, în ciuda specificității și sensibilității examenului citologic, acesta reprezintă numai o parte a algoritmului de investigare a pacientului suspectat de revărsat pleural tuberculos și pledează pentru investigarea completă clinică, biologică și morfologică a pacientului, care poate clarifica diagnosticul și în absența examenului citologic.

Observațiile noastre s-au încadrat în limitele de variație ale diferitelor aspecte clinice morfologice și comportamentale ale revărsatelor pleurale de etiologie tuberculoasă regăsite în literatura de specialitate.

Revărsatele pleurale de origine tuberculoasă sunt o realitate din ce în ce mai prezentă datorită recrudescenței tuberculozei pulmonare în ultimele decenii și sunt prezente fie ca boală nouă, cu reacție granulomatoasă de tip reactiv, dar și ca reactivare a leziunilor vechi, „vindecate”, cu grade diferite de fibroză pleurală în fundal. Prin urmare, confruntat cu un revărsat pleural unilateral, liber, apărut mai ales la un bărbat de orice vârstă, orice practician ar trebui să se gândească mai presus de toate la etiologia tuberculoasă.

## **BIBLIOGRAFIE**

1. Antonangelo L, Vargas FS, Seiscento M, Bombarda S, Teixeira L, Sales RK. Clinical and laboratory parameters in the differential diagnosis of pleural effusion secondary to tuberculosis or cancer. *Clinics (Sao Paulo)*. 2007, 62(5):585-590. Doi: 10.1590/s1807-59322007000500009. PMID: 17952319.
2. Berger HW, Mejia E. Tuberculous pleurisy. *Chest*, 1973, 63(1):88-92.
3. Boka K. Pleural Effusion Workup <https://emedicine.medscape.com/article/299959-workup>, Updated: Dec 28, 2018
4. Choi H, Chon HR, Kim K, Kim S, Oh KJ, Jeong SH, Jung WJ, Shin B, Jhun BW, Lee H, Park HY, Koh WJ. Clinical and Laboratory Differences between Lymphocyte- and Neutrophil-Predominant Pleural Tuberculosis. *PLoS One*, 2016, 11(10):e0165428. doi: 10.1371/journal.pone.0165428. PMID: 27788218; PMCID: PMC5082823.
5. Çirak AK, Tekgül S, Bilaçeroğlu S, Kömürçüoğlu B, Uçar MA, Yalniz E. Diagnostic values of pleural fluid and serum C-reactive protein, Adenosine

- deaminase, and Lactate dehydrogenase levels and pleural fluid/serum ratios in the differentiation of malignant from benign pleural effusions. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi*, 2012, XXVI(2):75-82
6. Epstein DM, Kline LR, Albelda SM, Miller WT. Tuberculosis pleural effusions. *Chest*, 1987, 91(1):106–109.
  7. Gupta BK, Bharat V, Bandyopadhyay D. Role of Adenosine Deaminase Estimation in Differentiation of Tuberculous and Non-tuberculous Exudative Pleural Effusions. *J Clin Med Res*, 2010, 2(2):79-84. doi: 10.4021/jocmr2010.03.280w. PMID: 21811524; PMCID: PMC3140883.
  8. Light RW. Clinical practice. Pleural effusion. *N Engl J Med*, 2002, 346(25):1971-1977
  9. Mercer RM, Corcoran JP, Porcel JM, Rahman NM, Psallidas I. Interpreting pleural fluid results . *Clin Med (Lond)*, 2019, 19(3):213-217. doi: 10.7861/clinmedicine.19-3-213. PMID: 31092513; PMCID: PMC6542220.
  10. Pai M, Behr MA, Dowdy D, Dheda K, Divangahi M, Boehme CC, Ginsberg A, Swaminathan S, Spigelman M, Getahun H, Menzies D, Raviglione M. Tuberculosis. *Nat Rev Dis Primers*, 2016 Oct 27, 2:16076
  11. Reddy SL , Varaprasad K , Narahari N , Bhaskar K , Varma GR , Paramjyothi GK. Clinical and etiological profile of an exudative pleural effusion in a tertiary care center. *Indian Journal of Respiratory Care*, 2019, 8. 22. doi: 10.4103/ijrc.ijrc\_8\_18
  12. Romero-Candeira S, Fernandez C, Martin C, Sanchez-Paya J, Hernandez L. Influence of diuretics on the concentration of proteins and other components of pleural transudates in patients with heart failure. *Am J Med*, 2001, 110(9):681-686. doi: 10.1016/s0002-9343(01)00726-4. PMID: 11403751
  13. Valdés L, San José ME, Pose A, Gude F, González-Barcala FJ, Álvarez-Dobaño JM, Sahn SA. Diagnosing tuberculous pleural effusion using clinical data and pleural fluid analysis. A study of patients less than 40 years-old in an area with a high incidence of tuberculosis. *Respir Med*, 2010, 104(8):1211–1217. doi: 10.1016/j.rmed.2010.02.025. PMID: 20347287.
  14. World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report, 2018. Available from: [https://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/)
  15. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2019. [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/).

16. Yang X, Zhang J, Liang Q, Pan L, Duan H, Yang Y, Li H, Guo C, Sun Q, Jia H, Du B, Wei R, Xing A, Zhang Z, Chen X. Use of T-SPOT.TB for the diagnosis of unconventional pleural tuberculosis is superior to ADA in high prevalence areas: a prospective analysis of 601 cases. *BMC Infect Dis*, 2021, 21(1):4. doi: 10.1186/s12879-020-05676-2. PMID: 33397312; PMCID: PMC7784372.
17. Zhai K, Lu Y, Shi HZ. Tuberculous pleural effusion. *J Thorac Dis*, 2016, 8(7):E486-E494.

## **LUCRARI PUBLICATE**

(1) **Nicolosu Dragoș**, Plesea IE, Demetrian AD, Plesea RM, Popescu EL, Strambu IR, Tataru T. The clinical-morphological profile of tuberculous pleuritis - our experience in relation to literature data. Rom J Morphol Embryol. 2019, 60(2): 555–565. PMID: 31658329. **IF: 1,41**

Link: <https://rjme.ro/RJME/resources/files/600219555565.pdf>

(2) Ruesen, C., Riza, A.L., Florescu, A. Chaidir L, Editoiu C, Aalders N, **Nicolosu Dragoș**, Grecu V, Ioana M, van Crevel R & van Ingen J. Linking minimum inhibitory concentrations to whole genome sequence-predicted drug resistance in Mycobacterium tuberculosis strains from Romania. Sci Rep, 2018, 8:9676. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27962-5>. **IF:4.379**

Link: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-27962-5>

(3) **Nicolosu Dragoș**, Georgescu M, Cioboata R. Tuberculous pleural effusion or dextroposition of the heart? A case report. Fiziologia – Physiology, 2019, 29.1(97)

Link:

[http://revista\\_fiziologia.umft.ro/archives/Fiziologia\\_Physiology\\_No.1\\_2019.pdf](http://revista_fiziologia.umft.ro/archives/Fiziologia_Physiology_No.1_2019.pdf)