

A ADENOSINADESAMINASE. Uma Enzima Pluridisciplinar

J.G. SARAIVA DA CUNHA

Clinica de Doenças Infecciosas Hospital da Universidade de Coimbra.

RESUMO

A adenosinadesaminase é uma enzima que participa activamente no metabolismo dos nucleótidos da adenina, catalisando a desaminação hidrolítica irreversível da desoxi-adenosina e da adenosina, com a produção de desoxi-inosina e de inosina, respectivamente, e de amoníaco. Desempenha por este motivo um papel importante na maturação e na activação linfo-monocitária. O aumento da actividade desta enzima nos diferentes líquidos biológicos (líquido pleural, pericárdio, peritoneal, articular, cefalorraquidiano) tem sido utilizado como teste de diagnóstico rápido da infecção tuberculosa. Na infecção pelo vírus da imunodeficiência humana verificou-se que a actividade enzimática se eleva progressivamente no soro e nas células hemáticas, acompanhando a evolução natural da doença. O mecanismo fisiopatológico não está definitivamente estabelecido, apontando-se os linfócitos CD4+ e os macrófagos como principais responsáveis pelo aumento da actividade da enzima. Por este motivo, a adenosinadesaminase poderá ser um marcador da resposta imunitária celular. O estudo da enzima nas células hemáticas esclareceu o diagnóstico de 30-50% dos casos de imunodeficiência combinada grave, que são devidos ao défice congénito da mesma. Uma variedade de anemia hemolítica congénita fica a dever-se à exagerada actividade enzimática nos eritrócitos.

SUMMARY

Adenosine deaminase. A multidisciplinary enzyme

Adenosine deaminase is an enzyme that actively participates in the metabolism of the adenine nucleotides. It catalyzes the irreversible hydrolytic deamination of deoxyadenosine and adenosine with the production of deoxyinosine and inosine respectively and of ammonia. This enzyme thus plays an important role in lympho-monocyte maturation and activation. The increase in its activity in different biological fluids (pleural, pericardial, peritoneal, intra-articular and cerebrospinal fluids) has been used as a rapid diagnostic test in tuberculosis infection. In human immunodeficiency virus infection, it was verified that enzymatic activity progressively increases in serum and blood cells, accompanying the natural evolution of the disease. The physiopathological mechanism has not been definitely established but the CD4+ lymphocytes and macrophages are pointed to as being accountable for the enzyme's increase in activity. For this reason, adenosine deaminase could be a marker of the cellular immune response. The study of adenosine deaminase activity in blood cells elucidated the diagnosis of severe combined immunodeficiency (due to a congenital lack of the enzyme) in 30 to 50% of the cases. One type of congenital hemolytic anemia is due to an exaggerated enzymatic activity in red blood cells.

INTRODUÇÃO

A enzima — Adenosinadesaminase (ADA) — foi identificada em 1939 por Conway e Cooke¹, quando analisavam tecidos de coelhos. Tem por função a desaminação hidrolítica irreversível de dois nucleósidos, adenosina e desoxi-adenosina, com a conseqüente produção de inosina ou desoxi-inosina, respectivamente, e de amoníaco (Fig. 1)^{2,3}. Esta reacção constitui um passo fundamental do metabolismo dos nucleótidos da adenina^{3,4}.

A ADA encontra-se presente em todos os tecidos do homem e restantes animais, embora seja mais abundante na mucosa do tubo digestivo e nos órgãos linfóides^{2,5}. Nestes últimos, predomina no timo, seguindo-se, por ordem decrescente, o baço e os gânglios linfáticos⁶. O fígado, o rim, o cérebro e os pulmões contêm, comparativamente aos anteriores, menor quantidade da enzima^{2,6}.

Ao analisar o conteúdo celular, encontram-se valores da ADA mais elevados nos timócitos corticais, seguindo-se, por ordem decrescente, os timócitos medulares, os linfócitos, os neutrófilos e os eritrócitos^{5,7,8,9}. Entre as diferentes populações linfocitárias, verifica-se uma presença mais abundante da ADA nos linfócitos T, relativamente aos B^{7,9-12}, sendo ainda tanto mais ricos em enzima quanto maior o seu grau de imaturidade¹³. Presume-se que os linfócitos B estejam

melhor providos que os T numa protease responsável pela degradação da ADA¹⁴, o que explicaria os valores 7-12 vezes mais elevados da enzima nestes últimos¹⁵. Quando se investiga o conteúdo em ADA das subpopulações linfocitárias, verifica-se que os linfócitos CD4+ apresentam níveis iguais¹⁶, ou superiores aos CD8+, embora a diferença não alcance significado estatístico¹¹.

Os monócitos e os macrófagos apresentam, habitualmente, níveis idênticos aos dos linfócitos T, enquanto os linfócitos *null cell* possuem maior quantidade de enzima que os T, em função do número de células, mas menor quantidade que estes se tivermos em conta o conteúdo celular total em proteínas^{10,17}.

Não constitui surpresa, por tudo quanto atrás se disse, que a ADA desempenhe um papel importantíssimo na maturação dos linfócitos T^{12,18} e dos monócitos¹⁹, assim como na transformação linfoblástica após estimulação com os mitogénios, como a fitohemaglutinina²⁰ ou a concanavalina A²¹, ou com antígenos²². De igual modo, a enzima encontra-se intimamente associada à activação monocita-macrofágica^{23,24}.

A comprovar o papel primordial desta enzima na maturação linfocitária e, conseqüentemente, em todo o mecanismo imunitário, verifica-se uma forma severa de imunodeficiência congénita (responsável por 30-50% dos casos de imunodeficiência combinada grave²⁵), que ocorre sempre que ela se

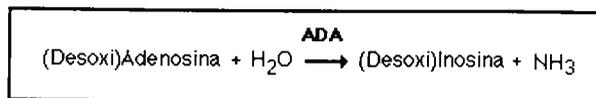


Fig. 1 — Actuação da ADA.

encontra nas células linfóides em quantidades insuficientes⁴. Foi ainda sugerida a possibilidade da redução progressiva dos níveis de ADA nos linfócitos, que sucede com o decorrer dos anos, poder motivar algumas das alterações imunitárias verificadas nos idosos²⁶.

No que respeita à localização intracelular da ADA, verifica-se que a enzima se encontra fundamentalmente (97%) no citoplasma, estando a restante distribuída pelos organelos celulares². Apesar desta localização predominantemente citoplasmática, a sua ligação à membrana celular através da Proteína Fixadora da ADA (PFADA)⁸, permite que o respectivo centro activo (centro catalítico ou de substrato) se localize, em parte, extracelularmente, podendo, deste modo, actuar também sobre a adenosina extracelular²⁷. A finalidade desta compartimentação da ADA (localização simultaneamente intra e extracelular) continua por esclarecer²⁷.

O gene que codifica a síntese da ADA foi já identificado²⁸, localizando-se no braço longo do cromossoma 20, no locus denominado 20q 13.2 qter²⁸. Conhecem-se dois alelos autossómicos codominantes, ADA¹ e ADA², que se encontram na origem dos três fenótipos ADA 1, ADA 2 e ADA 2-1 mais comuns²⁹. Os fenótipos ADA 1 e ADA 2 correspondem à forma homocigótica e o ADA 2-1 à heterocigótica²⁹. Outros alelos (invulgares e geradores de fenótipos com menor actividade enzimática) têm sido descritos, como o ADA³ e o ADA⁵^{30,31}.

Em Portugal, Weissmann et al³² tiveram a oportunidade de analisar 571 indivíduos, tendo encontrado em 94,55% o gene ADA¹ e em 5,45% o gene ADA², constatarem ainda a presença, muito rara, dos fenótipos ADA 5-1 e ADA 5-2.

Os diferentes níveis da ADA verificados nas células e nos tecidos estão na dependência da regulação genética; encontram-se valores tanto mais elevados consoante a maior actividade transcricional do gene da ADA, de que resulta uma maior produção de Ácido Ribonucleico Mensageiro (ARNm) e, como consequência, abundante síntese enzimática³³.

A adenosinadesaminase apresenta um grande polimorfismo genético, molecular e electroforético. Cedo se constatou a existência de várias isoenzimas com diferentes pesos moleculares, propriedades cinéticas, distribuição tecidual, mobilidade electroforética² e resistência aos inibidores da ADA³⁴, são habitualmente referidas as seguintes:

— ADA_I, de baixo peso molecular (40 KD), a única existente no timo e nos eritrócitos e que constitui a unidade catalítica activa^{2,35};

— ADA_{II}, de peso molecular intermédio (110 KD), a forma predominante (responsável por cerca de 75% da actividade enzimática) no soro³⁶, e da qual ainda pouco se conhece no respeitante à sua origem e função, suspeitando-se que possa ser uma aminohidrolase distinta da ADA e com origem num locus genético diferente^{35,37,38};

— ADA_{I+PFADA}, de grande peso molecular (280 KD), que resulta da junção de duas moléculas de ADA_I com a PFADA, localiza-se fundamentalmente no fígado, no baço e no rim^{39,40}.

Os tecidos que apresentam maior actividade da ADA, como o intestino, o estômago e o baço (assim como os eritrócitos), são particularmente ricos na forma de baixo peso

molecular, enquanto naqueles em que a enzima se mostra menos activa, como o rim, o fígado e os pulmões, é a ADA de grande peso molecular que predomina².

A proteína fixadora da ADA (que não possui actividade enzimática intrínseca) é uma glicoproteína das membranas celulares, com o peso molecular de 120 KD, embora exista uma forma solúvel, com o peso molecular de 200 KD, que é um dímero da primeira, desconhecendo-se, no entanto, o mecanismo de dimerização⁴¹. Recentemente, foi comprovada também a sua presença, em menor quantidade, no citoplasma⁴². A distribuição da PFADA pelos diferentes tecidos humanos caracteriza-se pela presença abundante na pele, córtex renal, tubo digestivo, próstata e naqueles em que predomina a isoenzima ADA_{I+PFADA}^{2,42}.

Diferentes funções têm sido atribuídas à PFADA, sem que existam certezas, ou consensos, entre os diversos Autores. Poderia actuar como receptor celular, não para promover a entrada de ADA nas células, mas para manter a enzima ancorada à membrana, protegendo a célula dos efeitos tóxicos da adenosina e regulando o nível da adenosina extracelular²⁷. No entanto, pela sua localização na bordadura em escova das células do tubo contornando proximal do rim, foi sugerido que ela funcionaria ali como verdadeiro receptor celular da ADA, ao promover a reabsorção de grande parte da enzima filtrada pelo glomérulo⁴³. Segundo outros, teria importante papel modulador do metabolismo de ADA e da transformação maligna celular⁴⁴.

Foi aventada alguma utilidade clínica para a pesquisa da PFADA na urina: devido à sua localização nas células tubulares do rim, poderia servir para a distinção entre glomerulopatias e tubulopatias, encontrando-se os valores mais elevados nas últimas⁴⁵.

UTILIZAÇÃO CLÍNICA

Existem diferentes métodos laboratoriais de determinação da actividade da ADA (ou das suas isoenzimas³⁶), a maioria dos quais baseando-se na pesquisa dos subprodutos da actuação da enzima sobre a adenosina (Figura 1)⁴⁶⁻⁴⁹. No entanto, o método mais utilizado em estudos recentes, realizados em líquidos biológicos, é o colorimétrico de Giusti e Galanti⁵, que se fundamenta na pesquisa do amoníaco formada pela acção da ADA sobre a adenosina, recorrendo à reacção de Berthelot. É este o método actualmente em execução no Instituto de Patologia Geral da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (Director: Prof. Doutor Raul Azevedo-Bernada).

A actividade da enzima pode ser pesquisada em vários líquidos biológicos (no soro ou plasma e nos líquidos ascítico, pleural, pericárdico, articular e cefalorraquidiano) e também, nas células ou em tecidos. As patologias em que se justifica o estudo da ADA desdobram-se por diferentes especialidades médicas e cirúrgicas, o que lhe confere um carácter pluridisciplinar.

Inúmeras têm sido as propostas de utilização clínica da determinação da actividade da ADA nos diversos produtos biológicos, embora, actualmente, apenas uma se considere verdadeiramente induscutível: aquela que se reporta ao diagnóstico da imunodeficiência associada à carência congénita da enzima.

ADA no Soro ou no Plasma

Pela facilidade de obtenção, o soro ou o plasma foram os primeiros produtos biológicos a serem analisados. Utilizando o método colorimétrico, os valores de referência da ADA no soro estão compreendidos (intervalo de confiança de 95%) entre 10 e 25 Unidades Internacionais por litro (U/L)⁵.

Inicialmente, orientou-se o seu estudo para a patologia hepática, aplicando-se ao diagnóstico diferencial da icterícia. Verificou-se a existência de valores mais elevados na icterícia de causa hepatocelular (hepatite, cirrose hepática), comparativamente à de origem obstrutiva (litíase e neoplasias)^{5,50,51,52}. No entanto, o desenvolvimento de novos e mais precisos testes de função hepática retirou-lhe, presentemente, qualquer valor⁵³.

Ao associar-se a enzima com a resposta imune, as atenções concentram-se no seu estudo em patologias que tinham de comum o facto de provocarem uma estimulação marcada do sistema imunitário, principalmente da sua vertente celular. Assim, verificou-se que em doenças como a febre tifóide^{54,55}, a mononucleose infecciosa⁵⁶, a tuberculose pulmonar⁵⁷, a brucelose humana⁵⁸, a lepra⁵⁹, a pneumonia por *Mycoplasma pneumoniae*⁶⁰, a febre escarar-nodular^{61,62,63}, a infecção pelo vírus da Imunodeficiência Humana (VIH)^{64,68}, a leucemia de células T do adulto⁶⁹, a miastenia grave⁷⁰ e a sarcoidose⁷¹, se encontraram níveis no soro (ou no plasma) superiores aos dos grupos de controlo. Durante a gravidez constata-se, inversamente, uma diminuição da actividade da enzima no soro⁷².

Em crianças com infecções respiratórias baixas, verificaram-se os valores mais elevados da ADA na tuberculose pulmonar, seguindo-se, com níveis progressivamente menores, a pneumonia bacteriana, a pneumonia por *Mycoplasma pneumoniae* e a pneumonia vírica⁵⁷. Estes resultados diferem dos encontrados em pneumonias (excluída a tuberculose) de militares, já que os maiores valores se verificaram na infecção por adenovírus, logo seguidos pela causada por *Mycoplasma pneumoniae* e por *Chlamydia spp*⁷³.

Em doentes submetidos e transplante renal, o doseamento seriado da ADA no soro, não mostrou utilidade como indicador dos doentes que iriam desenvolver rejeição do enxerto⁷⁴.

Na infecção pelo VIH parece existir alguma relação entre os valores encontrados e o estágio da doença, elevando-se aqueles progressivamente com o avanço da mesma⁶⁴⁻⁶⁶; o aumento da actividade da ADA no soro resulta da maior actividade da isoenzima ADA₁₁, enquanto a ADA₁ pouco se altera^{65,68}. A explicação fisiopatológica para este aumento da actividade da enzima (coincidente com uma depleção marcada dos linfócitos CD4+ e um acentuado défice da resposta imunitária) não se encontra ainda perfeitamente definida. Foi sugerido que poderia resultar da activação macrofágica⁶⁵, células cujo número, contrariamente aos linfócitos, sofre poucas alterações durante a evolução natural da infecção pelo VIH⁷⁵.

ADA no Líquido Pleural

Constitui, sem dúvida, um dos líquidos biológicos até agora mais exaustivamente analisados, em virtude da grande frequência da patologia pleuropulmonar e da dificuldade do diagnóstico etiológico dos derrames pleurais, nomeadamente a diferenciação dos derrames de origem tuberculosa dos de etiologia neoplásica. Seleccionámos apenas aqueles estudos em foi determinada a actividade da ADA pelo método colorimétrico, cujos resultados apresentados, sumariamente, no Quadro 1. Merece, no entanto, uma referência especial o trabalho pioneiro em Portugal de Baganha e restantes Colaboradores do Serviço de Pneumologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra (Director: Prof. Doutor Robalo Cordeiro)^{84,87}, que cedo se aperceberam da utilidade desta determinação.

O mérito da determinação da actividade da ADA no líquido de derrame pleural, como método laboratorial indicador da sua possível etiologia tuberculosa, não sofre (com raras excepções)^{91,92} contestação, muito embora, como

sucedem com outros testes, as opiniões se dividam quanto à sua sensibilidade e especificidade. Isto fica a dever-se, em nossa opinião, ao estabelecimento de diferentes limiares de sensibilidade (oscilando entre 33 e 70 U/L), ao número variável de doentes estudados e aos diversos critérios utilizados na sua selecção e diagnóstico.

Apontam-se, repetidamente, valores superiores a 40 U/L nos derrames tuberculosos, podendo ser encontrados resultados falsamente negativos se a colheita for efectuada muito precocemente⁹³, nas crianças com menos de 1 ano⁹⁴ ou na tuberculose miliar⁹⁵. Os resultados falsamente positivos surgem nos derrames de origem reumatóide^{81,88,96,97} ou linfomatosa^{88,98}, na tularemia⁹⁹ e nos empiemas pleurais^{79,81,89,92}. Os carcinomas brônquicos e os mesoteliomas raramente originam uma actividade da ADA acima daquele limiar^{92,100}. Observaram-se resultados discordantes no derrame do lúpus eritematoso sistémico, sendo por alguns Autores assinalados valores elevados⁸⁵, ao contrário dos restantes^{79,97}.

Curiosamente, também no líquido de lavagem bronco-alveolar se encontraram valores superiores da actividade da ADA na tuberculose pulmonar, comparativamente às neoplasias, à semelhança do que se verifica nos derrames pleurais¹⁰¹. Pêgo et al¹⁰² confirmaram estes dados, acrescentando que o mesmo se verifica na sarcoidose, e relacionaram este facto com a particular riqueza em linfócitos CD4+ destes líquidos de lavagem alveolar.

ADA no Líquido Pericárdio

Neste líquido, valores habitualmente superiores a 40 U/L são encontrados na pericardite tuberculosa, enquanto nas de outra etiologia infecciosa, inflamatória ou neoplásica a actividade enzimática da ADA é menor^{88,94,103,103a}. Também aqui se assinala a existência de resultados falsamente positivos, em doentes com pericardites purulentas e neoplásicas^{103a}.

ADA no Líquido Peritoneal

A peritonite tuberculosa constitui uma outra doença em que a determinação da actividade da ADA no líquido ascítico se revela de grande utilidade, ao permitir estabelecer o diagnóstico diferencial com outras possíveis etiologias, nomeadamente a neoplásica (Quadro 2). Uma vez mais foram encontrados resultados falsamente positivos em peritonites neoplásicas e fúngicas e, falsamente negativos, em indivíduos alcoólicos¹⁰⁵. Aguado e Pons¹⁰⁹ confirmaram, todavia, a utilidade do teste no diagnóstico da tuberculose peritoneal em doentes alcoólicos com cirrose hepática e ascite.

ADA no Líquido Articular

Foi demonstrada a presença de valores elevados ($21,5 \pm 8,4$ U/L) no líquido articular de doentes com artrite reumatóide (à semelhança do líquido pleural) e com artrite reactiva ($18,5 \pm 10,3$ U/L), comparativamente aos encontrados no líquido articular de cadáveres (< 10 U/L), que foram considerados como grupo de controlo¹¹⁰. Pettersson et al¹¹¹ confirmaram globalmente estes resultados, tendo igualmente encontrado valores superiores a 27,5 U/L no líquido articular dos joelhos no decurso da artrite reumatóide, da artrite reactiva e da artrite crónica juvenil; face à sobreposição de valores com os encontrados noutras patologias (artrite purulenta, gota, artrite do lúpus eritematoso sistémico), concluíram os mesmos Autores pela escassa utilidade do teste.

Wortmann et al¹¹² encontraram os níveis de ADA mais elevados do líquido articular na gota, na artrite reumatóide e na pseudogota; em concordância com Pettersson et al¹¹¹,

QUADRO 1 — Diferenciação dos derrames pleurais tuberculosos dos neoplásicos pela determinação da actividade da ADA, no líquido de derrame, através do método colorimétrico

Ano	n	ADA			Sens.	Espec.	Ref.
		Tuberc.	Neopl.	Limiar			
1978	54	83 ± 25	15 ± 6	—	—	(76)	
1983	221	92 ± 29	13 ± 10	45	1	(77)	
1984	293	90 ± 29	13 ± 12	43	1	(78)	
1984	90	101 ± 9	18 ± 1	—	—	(79)	
1986	74	93 ± 29	13 ± 10	50	1	(80)	
1987	86	104*	19*	53	1	(81)	
1987	108	100 ± 34	15 ± 8	40	1	(82)	
1987	54	155 ± 52	53 ± 94	70	1	(83)	
1987	52	112 ± 36	19 ± 9	50	1	(84)	
1988	138	93 ± 30	17 ± 11	33	1	(85)	
1988	45	54 ± 9	35 ± 5	—	—	(86)	
1988	73	111 ± 35	18 ± 8	47	1	(87)	
1989	600	—	—	0,71§	1	(88)	
1989	71	92*	23*	43	1	(89)	
1991	218	123 ± 39	—	70	0,98	(90)	
1991	109	71*	19*	45	0,77	(91)	

Valores (X ± SD) da ADA expressos em U/L e excluídos os decimais; n = número total de doentes estudados; Tuberc. — tuberculose; Neopl. — neoplasia; Sens. — Sensibilidade; Espec. — especificidade; Ref. — referência bibliográfica; * mediana; § valor expresso em $\mu\text{kat/L}$ ($1 \mu\text{Kat} = 60 \text{ U}$)

QUADRO 2 — Diferenciação dos derrames peritoneais tuberculosos dos neoplásicos pela determinação da actividade da ADA, no líquido de derrame, através do método colorimétrico

Ano	n	ADA			Sens.	Espec.	Ref.
		Tuberc.	Neopl.	Limiar			
1986	66	109*	6*	—	—	(104)	
1989	82	100 ± 49	—	32,3	0,95	(105)**	
1989	64	113 ± 45	—	32,3	1	(105)***	
1989	81	152 ± 57	19 ± 14	36	1	(106)	
1989	136	—	—	0,71§	1	(88)	
1990	87	141 ± 62	20 ± 14	36	1	(107)	
1990	49	99 ± 20	15 ± 7	33	1	(108)	

Valores (X ± SD) da ADA expressos em U/L e excluídos os decimais; n = número total de doentes estudados; Tuberc. — tuberculose; Neopl. — neoplasia; Sens. — sensibilidade; Espec. — especificidade; Ref. — referência bibliográfica; ** estudo retrospectivo; *** estudo prospectivo; § valor expresso em $\mu\text{kat/L}$ ($1 \mu\text{Kat} = 60 \text{ U}$)

afirmaram que a ADA se encontra aumentada no líquido sinovial sempre que existia inflamação articular, sem que se possa concluir, seguramente, qual a origem da enzima.

A determinação da actividade da ADA no líquido articular de doentes com artrite tuberculosa poderá, à semelhança do que acontece no líquido pleural, pericárdio e ascítico, vir a revelar-se um precioso método de diagnóstico. Foi já relatado o caso clínico dum doente com artrite tuberculosa do joelho direito em que se encontrou uma actividade da ADA com o valor de 94,2 U/L¹¹³.

ADA no Líquido Cefalorraquidiano (LCR)

O primeiro relato da presença da adenosinadesaminase no LCR data de 1961 e foi realizado por Zotti¹¹⁴. Nos indivíduos saudáveis, a ADA apresenta uma actividade reduzida (por vezes mesmo indetectável) no LCR, raramente ultrapassando as 2 U/L¹¹⁵⁻¹¹⁶.

Inicialmente, efectuou-se a determinação da actividade da enzima em doentes com neoplasias do Sistema Nervoso Central (SNC), tendo sido encontrados valores aumentados nesta patologia¹¹⁹.

Com a publicação por Hankiewicz e Lesniak¹²⁰, em 1972, dos primeiros resultados no LCR num leque mais alargado de patologia do SNC, deu-se início a um período em que diversos investigadores se debruçaram sobre o estudo da ADA no LCR em diferentes doenças neurológicas, com

especial ênfase colocada na aplicação do teste ao diagnóstico de meningite tuberculosa. Através de metodologia idêntica à que utilizármos para o líquido pleural e peritoneal, resumimos os resultados dos vários trabalhos científicos que abordaram esta matéria, no Quadro 3; para além dos estudos referidos neste Quadro e que envolveram um número importante de doentes, outros existem, relatando, a maioria das vezes, casos individuais e por isso sem grande significado¹²⁰⁻¹²⁸.

Ao consultar o Quadro 3 facilmente nos apercebemos da existência de profundas divergências nos resultados obtidos, conseqüência, talvez, da diferente metodologia utilizada, que se traduz numa grande heterogeneidade de factores importantes, como sejam: o número e modo de selecção dos doentes; as características do grupo de controlo; os diferentes estádios de evolução da doença em que foi efectuada a colheita de LCR; o estabelecimento de diversos limites de positividade do teste (entre 5 e 20 U/L). Particularmente perturbadoras são as grosseiras diferenças nos resultados verificados nos doentes com meningite bacteriana aguda.

Sintetizando, podemos afirmar que a maioria dos Autores encontrou, na meningite tuberculosa, níveis de ADA no LCR significativamente superiores aos do grupo de controlo, enquanto nas doenças inflamatórias ou degenerativas do SNC, assim como na meningite asséptica, os valores pouco diferiram do normal. No entanto, nem todos concordam com esta proposição, sustentando estes que a determinação da actividade da ADA no LCR se mostra desprovida de

QUADRO 3—Utilidade do doseamento da ADA no LCR, pelo método colorimétrico, no diagnóstico da meningite tuberculosa

Ano	n	ADA			Limiar	Sens.	Espec.	Ref.
		MT	MBA	MA				
1973	92	12,4 ± 3,8	2,6 ± 1,8	1,5 ± 0,9	—	—	—	(121)
1981	97	12,8 ± 6,3	2,7 ± 2	2,2 ± 1,5	—	—	—	(122)
1982	58	—	—	—	5	0,87	0,84	(123)
1984	169	15,7 ± 21,7	12,5 ± 12,3	2,1 ± 1,9	6	0,9	—	(115)
1986	334	12,6 ± 14,9	15,4 ± 17,6	2 ± 1,3	6	0,64	0,87	(124)
1986	101	11,7**	13,1**	5,8**	10	0,73	0,71	(125)
1987	245	15,7 ± 4,3	1,2 ± 1,9	1,4 ± 1,3	9	1	0,99	(116)
1989	250	—	—	—	0,15*	1	0,99	(88)
1990	255	11,4 ± 10,1	11,2 ± 15,5	2,2 ± 1,9	6	0,7	0,9	(118)
1990	95	13,3 ± 2,9	5,2 ± 6,6	4,5 ± 3,7	9,5	1	0,5	(125a)
1991	85	21***	3,2***	1,8***	20	1	0,99	(117)

Valores (X ± SD) da ADA expressos em U/L; LCR — líquido; n — número total de indivíduos estudados; MT — meningite tuberculosa; MBA — meningite bacteriana aguda; MA — meningite asséptica; Sens. — sensibilidade; Espec. — especificidade; Ref., referência bibliográfica; * valor expresso em $\mu\text{kat/L}$ ($1\ \mu\text{Kat} = 60\ \text{U}$); ** média; *** mediana

qualquer valor diagnóstico, por não permitir distinguir, com uma precisão suficiente, os diferentes tipos de meningite^{125,129}.

Nas crianças (principalmente naquelas de idade inferior a um ano) ocorrem, regra geral, valores de ADA no LCR inferiores aos dos adultos^{88,115,124}, como sucede no líquido de derrame pleural; os estudos que comportem grande número de indivíduos jovens deverão ter este facto em conta quando procederem ao estabelecimento do respectivo limiar de sensibilidade. Foi também referido que quando a colheita de LCR é efectuada numa fase muito precoce da meningite tuberculosa¹³⁰, ou o atingimento meníngeo resulta da existência duma tuberculose miliar⁹⁵, poderá acarretar o aparecimento de resultados falsamente negativos, mesmo em doentes adultos. O período da doença em que é efectuada a colheita deve ser, por isso, outro dado importante a ter em conta.

Se existem divergências relativamente aos resultados na meningite bacteriana aguda, outras patologias são referidas como podendo cursar com ADA elevada no LCR, nomeadamente: linfomas ou outras neoplasias cerebrais^{115,116,117,119,124}, neurosarcoidose^{117,131}, neurobrucelose¹³², meningites fúngicas¹³¹, meningite por *Listeria*¹³¹, meningite vírica¹²³ e toxoplasmose cerebral¹³³.

ADA nas Células Hemáticas

O doseamento da actividade da ADA nos linfócitos (quando presentes em número suficiente) e nos eritrócitos constitui o método ideal de diagnóstico da imunodeficiência causada pelo défice congénito da enzima, inicialmente descrita por Giblett et al em 1972¹³⁴. A ausência de ADA nestas células, que acontece por mutação do respectivo gene, tem como consequência o aparecimento de uma imunodeficiência grave, simultaneamente humoral e celular, incluída no grupo da Imunodeficiência Combinada Grave (ICG) e que, até há pouco tempo, era fatal⁴. Calcula-se que cerca de 30-50% dos casos de ICG terão esta causa, sendo a transmissão genética do tipo autossómico recessivo²⁵. A explicação fisiopatológica para esta imunodeficiência não foi ainda cabalmente estabelecida, embora os Autores estejam de acordo em que a causa reside na progressiva acumulação de metabolitos nas células (adenosina, desoxi-adenosina, dATP, AMP, S-adenosil-homocisteína), até se atingirem níveis tóxicos^{4,25}.

Embora a terapêutica deste défice imunitário tenha vindo a ser efectuada recorrendo ao transplante de medula óssea, à transfusão de glóbulos vermelhos irradiados ou à administração de adenosinadesaminase bovina modificada pelo

polietilenoglicol, hoje começa a vislumbrar-se uma nova esperança para estes doentes, com o desenvolvimento acelerado da terapia genética²⁵.

A verificação, nestes doentes, da presença de uma deficiência imunitária e de infecções oportunistas em tudo semelhantes às encontradas nos casos de SIDA¹³⁵, conduziu à investigação da actividade da enzima nas células destes últimos doentes, numa tentativa de melhor elucidar a fisiopatologia da síndrome¹³⁶. De igual modo, noutras doenças que atingem o eritrócito^{137,138} ou em que as células mononucleares estão intimamente envolvidas^{139,140}, a enzima foi também doseada.

FISIOPATOLOGIA

A explicação fisiopatológica para o aumento da actividade da ADA nos líquidos pleural, pericárdio, articular, peritoneal e cefalorraquidiano não está definitivamente estabelecida⁸⁸. De acordo com a opinião prevalecente, resultaria da presença abundante nestes líquidos de linfócitos CD4+, células que são especialmente ricas nesta enzima^{85,116,141}; para outros, o grau de activação ou de maturação destes linfócitos seria mais importante que o número absoluto^{77,142}. No entanto, nem todos aceitam esta explicação, por demasiado simplista e por não permitir justificar todas as eventualidades, alvitando-se que também o macrófago pode ser responsabilizado pela presença da enzima^{65,118}. Os microrganismos responsáveis pela infecção, assim como a destruição tecidual (e a lise dos neutrófilos¹⁵⁵) que daí resulta, podem, também, contribuir para o incremento da actividade enzimática nos líquidos acima referidos^{118,143}.

CONCLUSÕES

O diagnóstico da infecção tuberculosa das membranas serosas, sinovial e meníngea continua a representar um desafio à perspicácia do médico, já que os exames bacteriológicos são demorados e muitas vezes negativos, e o estudo histológico (nem sempre esclarecedor) exige a realização de técnicas medianamente agressivas para o doente. Por outro lado, a urgência da instituição da terapêutica tuberculostática, particularmente na meningite tuberculosa, torna imperiosa a investigação clínica sobre novos métodos de diagnóstico rápido da infecção. Estes devem ter como principais características¹⁴⁴: 1) serem de fácil execução para a maioria dos hospitais; 2) não necessitarem de pessoal qualificado nem de

aparelhagem sofisticada; 3) terem boa fiabilidade; 4) serem de baixo custo.

O exame directo (coloração pela auramina-rodamina ou pela técnica de Ziehl-Neelsen) dos líquidos obtidos por punção das referidas membranas perfilar-se-ia como método de diagnóstico rápido de eleição, não fosse a sua frequente negatividade.

Desde o início do século que os investigadores se têm debruçado entusiasticamente sobre a possibilidade de se efectuar o diagnóstico sorológico da tuberculose, embora os resultados continuem a não ser muito animadores (técnicas difíceis, aparelhagem sofisticada, inexistência de reagentes comercializados e padronizados, divergências nos resultados obtidos, dificuldade em distinguir a doença da infecção tuberculosa ou da resposta à vacinação com a vacina BCG)¹⁴⁵. Mais promissora parece ser a reacção de amplificação genética (Polimerase Chain Reaction dos Autores de Língua inglesa), técnica que ao sofrer uma progressiva generalização, que se espera venha a verifica-se também entre nós, permitirá reduzir substancialmente os actuais custos, apressar a obtenção de resultados e melhorar significativamente a qualidade do diagnóstico microbiológico¹⁴⁶.

A determinação da actividade de ADA constitui um método simples e económico de efectuar rapidamente (podem obter-se resultados em 2 horas) um diagnóstico presuntivo da infecção tuberculosa. O seu maior inconveniente reside no facto de existirem resultados falsamente positivos que poderão ocasionar a instituição de terapêuticas desajustadas; os resultados falsamente negativos representam um menor risco para o doente, em virtude do médico necessariamente prosseguir os estudos até ao estabelecimento do diagnóstico etiológico¹⁴⁴. Em suma, a fiabilidade do teste não é a mais desejada; apenas três dos quatro itens que caracterizam um teste ideal de diagnóstico rápido da infecção tuberculosa são preenchidos.

Apesar das reservas apontadas, e enquanto as técnicas de biologia molecular não se generalizarem, consideramos útil que os laboratórios hospitalares possam facultar a determinação da actividade da ADA, quer através da implementação local da técnica, quer através do envio dos produtos biológicos (a actividade da enzima mantém-se durante 72 horas a 4°C⁵ e durante 12 meses a -20°C⁷⁷) para laboratórios de referência. Uma organização insuspeita como a *American Thoracic Society*, na sua última revisão das normas padrão de diagnóstico da tuberculose, referiu-se às potencialidades da determinação da actividade da ADA (apenas no LCR) no diagnóstico da meningite tuberculosa¹⁴⁷.

Relativamente à determinação da actividade da ADA nas células hemáticas, o diagnóstico da imunodeficiência causada pelo défice congénito da enzima e o da anemia hemolítica congénita resultante da sua exagerada actividade constituem, actualmente, as únicas indicações precisas para a sua realização. Os estudos efectuados na SIDA não permitiram ainda ultrapassar a fase experimental.

Foi sugerido que a determinação da actividade da ADA nos líquidos biológicos poderia ser um marcador da resposta imunitária, particularmente da imunidade celular¹⁴⁸. No entanto, parecem-nos ser necessários estudos comparativos com outros marcadores (como a neopterina ou as citocinas) para que se possa concluir da sua real utilidade.

BIBLIOGRAFIA

- CONWAY E.J., COOKE R.: The deaminases of adenosine and adenylic acid in blood and tissues. *Biochem J* 1939; 33: 479-492.
- VAN DER WEYDEN M.B., KELLEY W.N.: Human adenosine deaminase — distribution and properties. *J Biol Chem* 1976; 251: 5448-5456.
- VIVAS A.S., VACA F.B., GERIQUE J.A.G., SASTRE F.G.: Adenosina desaminasa: características bioquímicas y significación clínica de una enzima clave para la inmunidad celular. *Med Clin (Barc)* 1988; 90: 548-552.
- EDWARDS N.L.: Immunodeficiencies associated with errors in purine metabolism. *Med Clin North Am* 1985; 69: 505-518.
- GIUSTI G., GALANTI B. Adenosine deaminase: Colorimetric method. in: Bergmeyer H.U., Bergmeyer J. Grabl M. eds. *Methods of enzymatic analysis*. 3rd ed. vol.IV. Weinheim: Verlag Chemie, 1984; 315-323.
- HIRSCHHORN R., MARTINIUK F., ROSEN F.S.: Adenosine deaminase activity in normal tissues and tissues from a child with severe combined immunodeficiency and adenosine deaminase deficiency. *Clin Immunol Immunopathol* 1978; 9: 287-292.
- CHECHIK W.P., MINOWADA J.: An Immunomorphologic study of adenosine deaminase distribution in human thymus tissue, normal lymphocytes, and hematopoietic cell lines. *J Immunol* 1981; 126: 1003-1007.
- MA D.D.F., SYLWESTROWICZ T.A., GRANGER S., et al: Distribution of terminal deoxynucleotidyl transferase and purine degradative and synthetic enzymes in subpopulations of human thymocytes. *J Immunol* 1982; 129: 1430-1435.
- SULLIVAN J.L., OSBORNE W.R.A., WEDGWOOD R.J.: Adenosine deaminase activity in lymphocytes. *Br J Haematol* 1977; 37: 157-158.
- COWAN M.J., FRAGA M., ANDREW J., LAMERIS-MARTIN N., AMMANN A.J.: Purine salvage pathway enzyme activities in human T-, B-, and Null lymphocyte populations. *Cell Immunol* 1982; 67: 121-128.
- MASSAIA M., MA D.D.F., SYLWESTROWICZ T.A., et al.: Enzymes of purine metabolism in human peripheral lymphocyte subpopulations. *Clin Exp Immunol* 1982; 50: 148-154.
- NISHIDA Y., OKUDAIRA K., TANIMOTO K., AKAOKA I.: The differences in purine metabolism between T and B lymphocytes. *Exp Hematol* 1980; 8: 593-598.
- BARTON R.W.: Expression of adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase isozymes in lymphohematopoietic precursor cells and normal and neoplastic lymphoid populations. *Cell Immunol* 1982; 73: 207-215.
- ARREDONDO-VEGA F.X., KURTZBERG J., CHAFFEE S., et al.: Paradoxical expression of adenosine deaminase in T cells cultured from a patient with adenosine deaminase deficiency and combined immunodeficiency. *J Clin Invest* 1990; 86: 444-452.
- DADDONA P.E.: Human adenosine deaminase — properties and turnover in cultured T and B lymphoblasts. *J Biol Chem* 1981; 256: 12496-12501.
- VAN DE GRIEND R., ASTALDI A., DE BRUIN H., et al.: Characterization of physically different human T-cell subsets with antibodies and biochemical markers. *Clin Immunol Immunopathol* 1981; 21: 94-105.
- MACDERMOTT R.P., TRITSCH G.L. FORMEISTER J.F.: Adenosine deaminase and nucleoside phosphorylase activities in normal human blood mononuclear cell subpopulations. *Clin Exp Immunol* 1980; 42: 303-307.
- SHORE A., DOSCH H-M, GELFAND E.W.: Role of adenosine deaminase in the early stages of precursor T cell maturation. *Clin Exp Immunol* 1981; 44: 152-155.
- FISCHER D., VAN DER WEYDEN M.B., SNYDERMAN R., KELLEY W.N.: A role for adenosine deaminase in human monocyte maturation. *J Clin Invest* 1976; 58: 399-407.
- HOVI T., SMYTH J.F., ALLISON A.C. WILLIAMS S.C.: Role of adenosine deaminase in lymphocyte proliferation. *Clin Exp Immunol* 1976; 23: 395-403.
- Carson D.A., SEEGMILLER J.E. Effect of adenosine deaminase inhibition upon human lymphocyte blastogenesis. *J Clin Invest* 1976; 57: 274-282.
- HALL J.G.: Adenosine deaminase in lymphoid cells during antibody production. *Australian Journal of Experimental Biology* 1963; 41: 93-98.
- MURRAY J.L., MEHTA K.M, LOPEZ-BERESTEIN G.: Induction of adenosine deaminase and 5'nucleotidase activity in cultured blood monocytes and monocytic leukemia (THP-1) cells by differentiating agents. *J Leukoc Biol* 1988; 44: 205-211.

24. YAGAWA K, OKAMURA J.: Role of adenosine in activation of macrophages. *Infect Immun* 1981; 32: 394-397.
25. PÉRIGNON J.L., HAMET M.: Déficits immunitaires secondaires à des enzymopathies. *Semaine des Hôpitaux de Paris* 1990; 66: 939-943.
26. CROSTI F., CIBODDO G.F., BARBIERI M.C., et al.: Evidence for adenosine deaminase lymphocyte system impairment in ageing. *Boll Ist Sieroter Milan* 1987; 66: 282-288.
27. FRANCO R., ARAN J.M., COLOMER D., MATUTES E., VIVES-CORRONS J.L.: Association of adenosine deaminase with erythrocyte and platelet plasma membrane: An immunological study using light and electron microscopy. *J Histochem Cytochem* 1990; 38: 653-658.
28. ORKIN S.H., DADDONA P.E., SHEWACH D.S., et al.: Molecular cloning of human adenosine deaminase gene sequences. *J Biol Chem* 1983; 258: 12753-12756.
29. SPENCER N., HOPKINSON D.A., HARRIS H.: Adenosine deaminase polymorphism in man. *Ann Hum Genet* 1968; 32: 9-14.
30. HOPKINSON D.A., COOK P.J.L., HARRIS H.: Further data on the adenosine deaminase (ADA) polymorphism and a report of a new phenotype. *Ann Hum Genet* 1969; 32: 361-367.
31. LUCARINI N., BORGIANI P.: Enzyme activity and distribution of adenosine deaminase types in a population of central Italy. *Hum Hered* 1989; 39: 322-326.
32. WEISSMANN J., VOLLMER M., PRIBILLA O.: Survey of the distribution of adenosine deaminase and superoxide dismutase markers in different populations. *Hum Hered* 1982; 32: 344-356.
33. CHINSKY J.M., MAA M.C., RAMAMURTHY V., KELLEMS R.E.: Adenosine deaminase gene expression — tissue-dependent regulation of transcriptional elongation. *J Biol Chem* 1989; 264: 14561-14565.
34. CONSTINE J., GLAZER R.I., JOHNS D.G.: Adenosine deaminase inhibitors: differential effects on multiple forms of adenosine deaminase. *Biochem Biophys Res Commun* 1978; 85: 198-202.
35. DADDONA P.E., KELLY W.N.: Human adenosine deaminase — purification and subunit structure. *J Biol Chem* 1977; 252: 110-115.
36. MURAOKA T., KATSURAMAKI T., SHIRAIISHI H., YOKOYAMA M.M.: Automated enzymatic measurements of adenosine deaminase isoenzyme activities in serum. *Anal Biochem* 1990; 187: 268-272.
37. DADDONA P.E., KELLEY W.N.: Characteristics of an aminohydrolase distinct from adenosine deaminase in cultured human lymphoblasts. *Biochim Biophys Acta* 1981; 658: 280-290.
38. RATECH H., HIRSCHHORN R.: Serum adenosine deaminase in normals and in a patient with adenosine deaminase deficient-severe combined immunodeficiency. *Clin Chim Acta* 1981; 115: 341-347.
39. RATECH H., THORBECKE J., MEREDITH G., HIRSCHHORN R.: Comparison and possible homology of isozymes of adenosine deaminase in aves and humans. *Enzyme* 1981; 26: 74-84.
40. SCHRADER W.P., STACY A.R.: Immunoassay of the adenosine deaminase complexing proteins of human tissues and body fluids. *J Biol Chem* 1979; 254: 11958-11963.
41. DADDONA P.E., KELLEY W.N.: Human adenosine deaminase binding protein — assay, purification, and properties. *J Biol Chem* 1978; 253: 4617-4623.
42. DINJENS W.N.M., TEN KATE J., VAN DER LINDEN E.P.M., WIJNEN J.T., KHAN P.M., BOSMAN F.T.: Distribution of adenosine deaminase complexing protein (ADCP) in human tissues. *J Histochem Cytochem* 1989; 37: 1869-1875.
43. SCHRADER W.P., MICZEK A.D., WEST C.A., SAMSONOFF W.A.: Evidence for receptor-mediated uptake of adenosine deaminase in rabbit kidney. *J Histochem Cytochem* 1988; 36: 1481-1487.
44. PORAT N., GILL D., PAROLA A.H.: Adenosine deaminase in cell transformation — biophysical manifestation of membrane dynamics. *J Biol Chem* 1988; 263: 14608-14611.
45. THOMPSON R.E., PIPER D.J., GALBERG C., CHAN T.H., TOLKOFF-RUBIN N.E., RUBIN R.H.: Adenosine deaminase binding protein, a new diagnostic marker for kidney disease. *Clin Chem* 1985; 31: 679-683.
46. HEINZ F.: Adenosine deaminase: UV-method. in: Bergmeyer H.U., Bergmeyer J, Grabl M, eds *Methods of enzymatic analysis* 3rd ed. vol IV Weinheim: Verlag Chemie 1984; 308-314.
47. ODA K., YOSHIDA S., HIROSE S., TAKEDA T.: Bioluminescent assay for serum adenosine deaminase with immobilized bacterial luciferase. *Clin Chim Acta* 1989; 185: 17-24.
48. SCHNEIDER Z.: A micromethod for estimation of adenosine deaminase and adenosine nucleosidase with modified cellulose nitrate membranes. *Anal Biochem* 1980; 108: 104-111.
49. WAKISAKA S., TACHIKI T., SUNG H.C., KUMAGAI H., TOCHICURA T., MATSUI S.: A rapid assay method for ammonia using glutamine synthetase from glutamate-producing bacteria. *Anal Biochem* 1987; 163: 117-122.
50. GOLDBERG D.M.: Serum adenosine deaminase in the differential diagnosis of jaundice. *Br Med J* 1965; 1: 353-355.
51. GOLDBERG D.M., FLETCHER M.J., WATTS C.: Serum adenosine deaminase activity in hepatic diseases — a comparative enzymological evaluation. *Clin Chim Acta* 1966; 14: 720-728.
52. GOLDBERG D.M., ELLIS G., WARD A.M.: A diagnostic triad for portal cirrhosis. *Clin Chim Acta* 1976; 72: 379-382.
53. CHOPRA S., GRIFFIN P.H.: Laboratory tests and diagnostic procedures in evaluation of liver disease. *Am J Med* 1985; 79: 221-230.
54. GALANTI B., GIUSTI G.: Attività adenosina deaminase del siero nella febbre tifoidea. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1968; 45: 327-330.
55. GALANTI B., NARDIELLO S., RUSSO M., FIORENTINO F.: Increased lymphocyte adenosine deaminase in typhoid fever. *Scand J Infect Dis* 1981; 13: 47-50.
56. KOEHLER L.H., BENZ E.J.: Serum adenosine deaminase methodology and clinical applications. *Clin Chem* 1962; 8: 133-140.
57. YASUHARA A., NAKARUMA M., SHUTO H., KOBAYASHI Y.: Serum adenosine deaminase activity in the differentiation of respiratory diseases in children. *Clin Chim Acta* 1986; 161: 341-345.
58. VICIANA P., LAMA C., PACHON J., CUELLO J.A., REY C., CISNEROS J.M.: Actividad adenosina deaminasa en la brucelosis humana. *Livro de resumos do 1.º Congresso Ibérico de doenças infecciosas e Microbiologia Clínica. Funchal 24 a 28 de Janeiro 1989 (Resumo 27)*.
59. CHAUDHARY S.D., GUPTA V., SAINI A.S., SINGH V., LAL H.: Adenosine deaminase activity in leprosy. *Indian J Lepr* 1988; 60: 17-20.
60. NISHIKAWA H., SUGA M., ANDO M., TANAKA F., ARAKI S.: Serum adenosine deaminase activity with *Mycoplasma pneumoniae*. *Chest* 1988; 94: 1315.
61. PIRAS M.A., GAKIS C., BUDRONI M., ANDREONI G.: Immunological studies in mediterranean spotted fever. *Lancet* 1982; i: 1249.
62. SORIANO V., SABRIÁ M., DAVINS J., ARAMBURU J.: Adenosin-deaminasa y fiebre botonosa. *Med Clin (Barc)* 1989; 92: 119.
63. VÁZQUEZ V.S., LEAL M.S., PONS J.F., ARNUELOS J.A., BARROSO C.R.J.: Actividad sérica de la adenosin deaminase en la fiebre botonosa mediterránea. *Rev Clin Esp* 1988; 182: 258-260.
64. DELIA S., MASTROIANNI C.A., MASSETTI A.P., et al.: Adenosinedeaminase activity and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Clin Chem* 1987; 33: 1675.
65. GAKIS C., CALIA G., NAITANA A., PIRINO D., SERRU G.: Serum adenosine deaminase activity in HIV positive subjects — A hypothesis on the significance of ADA2. *Panminerva Med* 1989; 31: 107-113.
66. HERNÁNDEZ D.M., BARBERO J.A., GALLAR F.N., ESTEBAN R.G., SANCHO J.S., GOMEZ-DE-TERREROS F.: Adenosine deaminase in the acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Chem* 1988; 34: 1949.
67. VALLS V., ENA J., ROCA V., PEREZ-OTEYZA C., FIGUEIREDO M.A., ENRIQUEZ-DE-SALAMANCA R.: Significance of adenosine deaminase measurements in sera of patients with HIV-1 infection. *Aids* 1990; 4: 365-366.

68. YOKOYAMA M.M., TSUBOI I.: Adenosine deaminase isoenzymes and HIV/HTLV-1 infections. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 698.
69. ODA T., KAGIMOTO T., ASO N., YAMAGUCHI K., TOMINO S., TAKATSUKI K.: Adenosine deaminase in plasma of patients with adult T-cell leukemia (ATL): correlation between enzyme activity and the ATL subtypes. *Hematol Oncol* 1985; 3: 173-117.
70. CHIBA S., MATSUMOTO H., MOTOI Y., MIYANO N., KASHOWAGI M.: High serum adenosine deaminase activity and its correlation with lymphocyte subsets in myasthenia gravis. *J Neurol sci* 1990; 100: 174-177.
71. TAYLOR A.: Serum adenosine deaminase activity in sarcoidosis. *Clin Chem* 1984; 30: 499-500.
72. JAQUETI J., MARTINEZ-HERNÁNDEZ D., HERNÁNDEZ-GARCIA R., NAVARRO-GALLAR F.: Adenosine deaminase in pregnancy serum. *Clin Chem* 1990; 36: 2144.
73. KLOCHARS M., KLEEMOLA M., LEINONEN M., KOSKELA M.: Serum adenosine deaminase in viral and bacterial pneumonia. *Chest* 1991; 99: 623-626.
74. ORTS J., FREY E.: Adenosine activity in serum of Kidney transplant recipients during the early postoperative period. *Clin Chem* 1985; 31: 1414-1415.
75. MELTZER M.S., SKILLMAN D.R., HOOVER D.L., et al.: Macrophages and the human immunodeficiency virus. *Immunol Today* 1990; 11: 217-223.
76. PIRAS M.A., GAKIS C., BUDRONI M., ANDREONI G.: Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Br Med J* 1978; 2: 1751-1752.
77. OCANA I., MARTÍNEZ-VÁZQUEZ J.M., SEGURA R.M., FERNANDEZ-DE-SEVILLA T., CAPDEVILA J.A.: Adenosine deaminase in pleural fluids — test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 1983; 84: 51-53.
78. MARTÍNEZ-VÁZQUEZ J.M., OCANA I., RIBERA E., et al.: Diagnóstico temprano de la tuberculosis pleuropereitoneal mediante la determinación de adenosina desaminasa. *Med Clin (Barc)* 1984; 83: 578-580.
79. PETERSSON T., OJALA K., WEBER T.H.: Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand* 1984; 215: 299-304.
80. OCANA I., MARTÍNEZ-VÁZQUEZ J.M., RIBERA E., SEGURA R.M., PASCUAL C.: Adenosine deaminase activity in the diagnosis of lymphocytic pleural effusions of tuberculous, neoplastic and lymphomatous origin. *Tubercle* 1986; 67: 141-145.
81. STRANKINGA W.F.M., NAUTA J.J.P., STRAUB J.P., STAM J.: Adenosine deaminase activity in tuberculous pleural effusions: a diagnostic test. *Tubercle* 1987; 68: 137-140.
82. FILHO F.C., RASSI R.H., MENDONÇA S.A.D., PIRES M.F.C., I.E., MORRONE N.: Actividade da adenosina deaminase no diagnóstico do derrame pleural. *Rev Paul Med* 1987; 105: 276-278.
83. TELO L., PESTANA E., OLIVEIRA F. et al.: Adenosina-deaminase no líquido pleural — um novo marcador biológico. *Boletim do Hospital de Pulido Valente* 1987; 1: 125-129.
84. BAGANHA M.F., GASPAS E., PEGO A., et al.: Actividade sérica e pleural da adenosinadesaminase — seu interesse no diagnóstico etiológico e diferencial dos derrames pleurais. *O Médico* 1987; 116: 998-1001.
85. BUESO J.F., HERNANDO H.V., GARCIA-BUELA J.P., JUNCAL L.D., EGANA M.T.M., MARTINEZ M.C.M.: Diagnostic value of simultaneous determination of pleural adenosine deaminase and pleural lysozyme/serum lysozyme ratio in pleural effusions. *Chest* 1988; 93: 303-307.
86. SULOCHANA G., KHALIFULLAH P.A., PADMANABHAN L.: Adenosine deaminase, alpha₁ antitrypsin, alpha₁ acid glycoprotein, ceruloplasmin and protein in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 1988; 30: 15-18.
87. BAGANHA M.F., PÊGO A., LIMA M.A.M., GASPAS E., ROBALO CORDEIRO J.A.: Actividade sérica e pleural da adenosinadesaminase. *Via Pneumológica* 1988; 1: 17-27.
88. SEGURA R.M., PASCUAL C., OCANA I., et al.: Adenosine deaminase in body fluids: a useful diagnostic tool in tuberculosis. *Clin Biochem* 1989; 22: 141-148.
89. VACA F.B., PÉREZ M.M., DOMÍNGUEZ C.P., et al.: Análisis de la adenosina desaminasa y sus subfracciones como parámetro diagnóstico del derrame pleural tuberculoso. *Rev Clin Esp* 1989; 184: 7-11.
90. BANALES J.L., PINEDA P.R., FITZGERALD J.M., RUBIO H., SALAZAR-LEZAMA M.: Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculous pleural effusions — A report of 218 patients and review of the literature. *Chest* 1991; 99: 355-357.
91. MAARTENS G., BATEMAN E.D.: Tuberculous pleural effusions: increased culture yield with bedside inoculation of pleural fluid and poor diagnostic value of adenosine deaminase. *Thorax* 1991; 46: 96-99.
92. VAN KEIMPEMA A.R.J., SLAATS E.H., WAGENAAR J.P.M.: Adenosine deaminase activity, not diagnostic for tuberculous pleurisy. *European Journal of Respiratory Diseases* 1987; 71: 15-18.
93. QUEROL J.M., BARBÉ F., MANRESA F., ESTEBAN L., CANETE C.: Low value of adenosine deaminase in tuberculous pleural effusions. *Eur Respir J* 1990; 3: 586-587.
94. BLAKE J., BERMAN P.: The use of adenosine deaminase assays in the diagnosis of tuberculosis. *S Afr Med J* 1982; 62: 19-21.
95. MAARTENS G., WILLCOX P., BENATAR S.R.: Miliary tuberculosis: rapid diagnosis, hematologic abnormalities, and outcome in 109 treated adults. *Am J Med* 1990; 89: 291-296.
96. OCANA I., RIBERA E., MARTINEZ-VÁZQUEZ J.M., et al.: Adenosine deaminase activity in rheumatoid pleural effusion. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 394-397.
97. PETERSSON T., KLOCKARS M., WEBER T.: Pleural fluid adenosine deaminase in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Chest* 1984; 86: 273.
98. VIDAL R.P., ARÁN X., BROQUETAS J.: High adenosine deaminase activity level in pleural effusion. *Chest* 1986; 90: 625.
99. SYRJALA H., KOSKELA P., KUJALA P., MYLLYLÄ V.: Guillain-barré Syndrome and tularemia pleuritis with high adenosine deaminase activity in pleural fluid. *Infection* 1989; 17: 152-153.
100. MONTEAGUDO M., MUNDET X., ARDERIU M.A.: Elevated adenosine deaminase in neoplastic pleural fluid. *Chest* 1986; 90: 466-467.
101. BOVORNKITT S., PUSHKAKOM R.: Adenosine deaminase in bronchoalveolar lavage fluid. *Chest* 1988; 94: 1113.
102. PÊGO A., LIMA A., GASPAS E., MARQUES A., ALMEIDA E SOUSA, BAGANHA F.: Actividade alveolar da adenosinadesaminase e sua correlação com as populações linfocitárias. *Via Pneumológica* 1989; 2: 35-42.
103. MARTÍNEZ-VÁZQUEZ J.M., RIBEIRA E., OCANA I., SEGURA R.M., SERRAT R., SAGRISTA J.: Adenosine deaminase activity in tuberculous pericarditis. *Thorax* 1986; 41: 888-889.
- 103a. TELENTI M., FDEZ J., QUIROS B., SUSANO R., TORRICO AM.: Péricardite tuberculose: valeur diagnostique de l'adenosine desaminase. *Press Med* 1991; 20: 637-640.
104. MARTÍNEZ-VÁZQUEZ J.M., OCANA I., RIBERA E., SEGURA R.M., PASCUAL C.: Adenosine deaminase activity in the diagnosis of tuberculous peritonitis. *Gut* 1986; 27: 1049-1053.
105. VOIGT M.D., KALVARIA I., TREY C., BERMAN P., LOMBARD C., KIRSH R.E.: Diagnostic value of ascites adenosine deaminase in tuberculous peritonitis. *Lancet* 1989; i: 751-754.
106. BHARGAVA D.K., NIJHAWAN S., GUPTA M.: Adenosine deaminase and tuberculous peritonitis. *Lancet* 1989; i: 1261.
107. BHARGAVA D.K., GUPTA M., NIJHAWAN S., DASARATHY S., KUSHWAHA A.K.S.: Adenosine deaminase (ADA) in peritoneal tuberculosis: diagnostic value in ascitic fluid and serum. *Tubercle* 1990; 71: 121-126.
108. DWIVEDI M., MISRA S.P., MISRA V., KUMAR R.: Value of adenosine deaminase estimation in the diagnosis of tuberculous ascitis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 1123-1125.
109. AGUADO J.M., PONS F.: Adenosine deaminase and tuberculous peritonitis. *Lancet* 1989; i: 1260-1261.
110. YUKSEL H., AKOGLU T.F.: Serum synovial fluid adenosine deaminase activity in patients with rheumatoid arthritis

- osteoarthritis and reactive arthritis. *Ann Rheum Dis* 1988; 47: 492-495.
111. PETTERSSON T., KLOCKARS M., WEBER T.H., VON ESSEN R.: Adenosine deaminase activity in joint effusions. *Scand J Rheumatol* 1988; 17: 365-369.
 112. WORTMANN R.L., VENUM J.A., RACHOW J.W.: Purine catabolic enzymes in human synovial fluids. In: Mikanagi K., Nishioka K., Kelly W.N., eds. *Purine and pyrimidine metabolism in man (VI) — Part A: clinical and molecular biology*. New York: Plenum Press, 1989; 393-398.
 113. ORISTRELL J., LARROSA M., SANTESMASSES A., TORRA M., SEGURA F.: Adenosindeaminasa en la artritis tuberculosa. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica* 1989; 7: 515-516.
 114. ZOTTI G.: Presenza dell'attività adenosin deaminasica nel liquido cerebro-spinale. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1961; 37: 1073-1074.
 115. MALAN C., DONALD P.R., GOLDEN M., TALJAARD J.J.F.: Adenosine deaminase levels in cerebrospinal fluid in the diagnosis of tuberculous meningitis. *J Trop Med Hyg* 1984; 87: 33-40.
 116. RIBERA E., MARTÍNEZ-VÁZQUEZ J.M., OCANA I., SEGURA R.M., PASCUAL C.: Activity of adenosine deaminase in cerebrospinal fluid for the diagnosis and follow-up of tuberculous meningitis in adults. *J Infect Dis* 1987; 155: 603-607.
 117. PETTERSSON T., KLOCKARS M., WEBER T.H., SOMER H.: Diagnostic value of cerebrospinal fluid adenosine deaminase determination. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 97-100.
 118. SARAIVA DA CUNHA J.G.: Contribuição para o estudo da adenosinadesaminase no líquido cefalorraquidiano (Aplicação clínica e fisiopatologia) (Tese de Doutorado). Coimbra: Universidade de Coimbra, 1990; 196 PÁG.
 119. KLUGE H., WINKLER G., WIECZOREK V., VOLHARDT A.: Adenosinadesaminase im liquor cerebrospinalis bei neurologisch-psychiatrisch kranken. *Klin Wochenschr* 1969; 47: 1268-1269.
 120. HANKIEWICZ J., LESNIAK M.: Adenosine deaminase in cerebrospinal fluid. *Enzymologia* 1972; 43: 385-395.
 121. PIRAS M.A., GAKIS C.: Cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity in tuberculous meningitis. *Enzyme* 1973; 14: 311-317.
 122. GAKIS C., SABA F., PIRAS M.A.: Adenosine deaminase activity as an index of cell-mediated immunity in cerebrospinal fluid of tuberculous meningitis. *African Journal of Clinical Experimental Immunology* 1981; 2: 345-355.
 123. MANN M.D., MACFARLANE C.M., VERBURG C.J., WIGGELINKHUIZEN J.: The bromide partition test and C.S.F. adenosine deaminase activity in the diagnosis of tuberculous meningitis in children. *S Afr Med J* 1982; 62: 431-433.
 124. DONALD P.R., MALAN C., VAN DER WALT A., SCHOEMAN J.F.: The simultaneous determination of cerebrospinal fluid and plasma adenosine deaminase activity as a diagnostic aid in tuberculous meningitis. *S Afr Med J* 1986; 69: 505-507.
 125. COOVADIA Y.M., DAWOOD A., ELLIS M.E., COOVADIA H.M., DANIEL T.M.: Evaluation of adenosine deaminase activity and antibody to *Mycobacterium tuberculosis* antigen 5 in cerebrospinal fluid and the radioactive bromide partition test for the early diagnosis of tuberculous meningitis. *Arch Dis Child* 1986; 61: 428-435.
 - 125a. TELENTI M., SUSANO R.C., GONZALEZ M.D., LAHOZ C.H., FDEZ J., QUIRÓS B.: Actividade da adenosina desaminasa no líquido cefalorraquideo. *Coimbra Médica* 1990; 11: 275-280.
 126. ENA J., CRESPO M.J., VALLS V., DE SALAMANCA R.E.: Adenosine deaminase activity in cerebrospinal fluid: a useful test for meningeal tuberculosis, even in patients with AIDS. *J. Infect Dis* 1988; 158: 896.
 127. ROBERT L., PIERSANTELLI N.: Di alcuni recenti aspetti biologici ed anatomo-clinici della meningite tubercolare. *Patologica* 1976; 68: 39-50.
 128. BURNAT P., PERRIER F., PERRIER E., et al.: Interet du dosage de l'activité de l'adenosine desaminase dans la meningite tuberculeuse. *Press Méd* 1989; 18: 1077.
 129. PARSONS M.: *Tuberculous meningitis, tuberculomas and spinal tuberculosis*. 2nd ed. Oxford: Oxford Medical Publications, 1988; 26.
 130. MORÉ J., MATAS E., GARAU J.: Determinación de adenosina desamina en la meningitis tuberculosa: existen falsos negativos iniciales en el adulto. *Med Clin (Barc)* 1988; 90: 595.
 131. GARCÍA-MONCÓ C., BERCIANO J.: Sarcoid meningitis, high adenosine deaminase levels in C.S.F. and results of cranial irradiation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51: 1594-1595.
 132. SARAIVA DA CUNHA, GASPARE E., MELIÇO-SILVESTRE A., AZEVEDO-BERNARDA R., CARINGTON DA COSTA.: Neurobrucellosis — another cause of increased adenosine deaminase activity in cerebrospinal fluid. *J Infect Dis* 1990; 161: 156-157.
 133. PEDRO-BOTET J., SORIANO J.C., TOMÁS S., MIRALLES R., RUBIÉS-PRAT J.: Adenosine deaminase in cerebrospinal fluid of cerebral toxoplasmosis in AIDS. *Infection* 1991; 19:13.
 134. GIBLETT E.R., ANDERSON J.E., COCHEN F., POLLARA B., MEUWISSEN H.J.: Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet* 1972; ii: 1067-1069.
 135. LAUZON D., DELAGÉ G., BROCHU P., et al.: Pathogens in children with severe combined immune deficiency disease or AIDS. *Can Med Assoc J* 1986; 135: 33-38.
 136. COWAN M.J., BRADY R.O., WIDDER K.J.: Elevated erythrocyte adenosine deaminase activity in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 1089-1091.
 137. CHOTTINER E.G., GINSBURG D., TARTAGLIA A.P., MITCHELL B.S.: Erythrocyte adenosine deaminase overproduction in hereditary hemolytic anemia. *Blood* 1989; 74: 448-453.
 138. GLADER B.E., BACKER K.: Elevated red cell adenosine deaminase activity: a marker of disordered erythropoiesis in Diamond-blackfan anemia and other haematologic diseases. *Br J Haematol* 1988; 68: 165-168.
 139. CHRISTENSEN L.D., SVENSON M., NYGAARD P., ANDERSEN V.: Decreased B lymphocyte ecto-5' nucleotidase and increased adenosine deaminase in mononuclear cells from patients infected with human immunodeficiency virus. *APMIS* 1988; 96: 882-888.
 140. YASMINEH W.G., BRYNES R.K., LUM C.T., ABBAZNEZHAD M.: Adenosine deaminase activity in lymphocytes of normal persons, leukemic patients, and kidney-transplant recipients. *Clin Chem* 1977; 23: 2024-2029.
 141. UNGERER J.P.J., GROBLER S.M.: Molecular forms of adenosine deaminase in pleural effusions. *Enzyme* 1988; 40: 7-13.
 142. BOVORNKITT S., PUSHPAKOM R., MARANETRA N., NARA A., CHAROENRATANAKUL S.: Adenosine deaminase and lymphocytic populations. *Chest* 1991; 99: 789-790.
 143. KAO S.J., WANG D., CHANG F.Y., HSU K., SHEN C.Y., CHEN J.: The evaluation of ADA activity in pleural effusion for the diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Kekkaku* 1988; 63: 9-14.
 144. DANIEL T.M.: Rapid diagnosis of tuberculosis: Laboratory techniques applicable in developing countries. *Rev Infect Dis* 1989; 11(suppl 2): S471-S478.
 145. GANGE J.M., LASZLO A.: Serodiagnostic tests for tuberculosis: a need for assessment of their operational predictive accuracy and acceptability. *Bull World Health Organ* 1990; 68: 571-576.
 146. BRISSON-NOEL A., GICQUEL B., LECOSSIER D., LÉVY-FRÉBAULT V., NASSIF X., HANCE A.J.: Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples. *Lancet* 1989; ii: 1069-1071.
 147. AMERICAN THORACIC SOCIETY.: Diagnostic standards and classification of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 725-735.
 148. BAGANHA M.F., PÉGO A., LIMA M.A., GASPARE E.V., ROBALO CORDEIRO A.: Serum and pleural adenosine deaminase — correlation with lymphocytic populations. *Chest* 1990; 97: 605-610.

Pedido de Separatas
 J.G. Saraiva da Cunha
 Clínica de Doenças Infecciosas
 Hospital da Universidade de Coimbra
 3049 Coimbra Codex