

## VLERA E SHËNJUESIT BIOLOGJIK ADENOZINË DE-AMINAZA (ADA) NË DIFERENCIMIN E EFUZIONIT PLEURAL TUBERKULAR

\*HAKANI L.<sup>1</sup>, MITRE A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Qendra mjedisore për Zhvillim, Edukim dhe Rrjetëzim

<sup>2</sup>Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti i biologjisë

e-mail: [lirahakani@yahoo.com](mailto:lirahakani@yahoo.com)

### Përmbledhje

Qëllimi i studimit është të vlerësojë rolin e shënjuesit biologjik adenozinë de aminaza (ADA) në diferencimin e efuzionit pleural tuberkular. Modeli që propozojmë bazohet në 122 raste me efuzion pleural, të analizuara në periudhën kohore 2010-2015. Duke u bazuar në kriteret e Light, dhe në analizat biokimike, citologjike pacientët me efuzion pleural u ndanë në dy grupe: me efuzion pleural transudat dhe efuzion pleural eksudat. Për secilin nga këta pacientë, mbas vendosjes së diagnozës suspekt tuberkular, u krye torakocenteza dhe u marrë lëng pleural i cili u analizua brenda 24 orëve. Rastet me efuzion pleural eksudat i'u nënshtruan analizës së ADA. Nga analizimet e kryera rezultoi që shënjuesi biologjik ADA është një shënjues i vlefshëm në diferencimin e efuzionit pleural eksudat tuberkular ndaj mund të shërbejë si test diagnostik me rezultate të shpejta dhe me kosto të ulët. Rezultatet e ADA duhet të plotësohen edhe me ato të shënjuesve të tjerë si INF $\gamma$  ose citologjia

### Abstract

The purpose of the study is to assess the role and the value of Adenosine deaminaza biomarker (ADA) in differentiating tuberculous pleural effusion. The model that we propose is based on 122 cases with pleural effusion, analyzed in the period 2010-2015. Based on Light's Criteria, on biochemical, on cytological analyses the patients with pleural effusion were divided into two groups: with transudative pleural effusion and exudative. For each of these patients, after the suspect tuberculosis diagnosis, the thoracentesis procedure was carried and the pleural fluid taken was analyzed within 24 hours. Exudative pleural effusion cases underwent ADA biomarker analyses. From the results obtained was pointed out that ADA biomarker is a valid marker in the differentiation of tuberculous exudative pleural effusion, thus it can serve as a diagnostic test with rapid results and with low cost. The results of ADA test should be met with the test results of other biomarkers as INF $\gamma$  or cytology.

**Fjalëkyçe:** Efuzion pleural, tuberkuloz, eksudat, adenozinë deaminaza.

### Hyrje

Efuzioni pleural është një grumbullimin i tepërt, jo normal, i lëngut në kavitetin pleural, që ndikon në procesin e frymëmarrjes dhe në lëvizjen normale të

mushkërisë. Kur prodhimi i lëngut tejkalon absorbimin, lëngu grumbullohet në sasi më të madhe se norma, në kavitetin pleural (Light, 2002). Bazuar në kriteret e Light, (në analizat biokimike, citologjike, mikrobiologjike) rastet me efuzion pleural klasifikohen në efuzion pleural eksudat dhe transudat (Light *et al.* 1972). Efuzioni pleural transudat dhe ai eksudat ndryshojnë jo vetëm nga faktorët që ndikojnë në formimin e tyre, por edhe nga përmbajtja dhe ngjyra që ka lëngu i efuzionit pleural përkatës

Pas përcaktimit të një efuzioni të mundshëm eksudat, është e nevojshme të përcaktohet etiologjia e tij dhe ai mund të jetë; parapneumonik, tuberkular dhe malinjë. Tuberkulozi renditet i dyti pas HIV/AIDS, për nga numri i vdekjeve në të gjithë botën, shkaktuar nga një agjent i vetëm infektues. Në vitin 2014 numri i vdekjeve në mbarë botën nga tuberkulozi ishte 1.5 milionë njerëz [WHO]. Në Shqipëri shkalla e incidencës nga tuberkulozi është 19/100000 banorë [World Bank]. *Mycobacterium tuberculosis* rritet shumë ngadalë ndaj vënja e diagnozës së tij nëpërmjet kulturës kërkon kohë (nga 2 në 6 javë) dhe trajtimi shpesh herë fillon përpara se të merret konfirmimi i kulturës (Wayne, 2008).

Në rastet me efuzion pleural eksudat nevojitet të vendoset diagnoza sa më shpejt dhe për këtë janë propozuar shënjesit biologjikë të cilët japin një informacion të besuar për etiologjinë e efuzionit pleural duke mundësuar mjekimin e shpejtë të tij. Për diferencuar efuzionin tuberkular studiuesit kanë përdorur shënjesin biologjik ADA, i cili është një enzimë që gjendet në baktere, bimë, vertebrorë, invertebrorë dhe gjitarë (Cristalli *et al.*, 2001). ADA prodhohet në të gjithë qelizat e njeriut, por nivelet më të larta, janë të pranishme në qelizat e sistemit imun, dhe në veçanti në limfocite. ADA është e rëndësishme në qelizat e gjitarëve për shkak të rolit që ka në diferencimin dhe maturimin e sistemit limfoid (Cristalli *et al.*, 2001). Limfocitet shërbejnë për të mbrojtur organizmin kundër trupave të huaj, si p.sh.viruse ose baktere dhe si rrjedhim aktiviteti i enzimës rritet gjatë përgjigjes mitogjenike dhe antigjenike të limfociteve (Hovi *et al.*, 1976). Kur sistemi imun aktivizohet p.sh. nga një infeksion, nga *Mycobacterium tuberculosis* (bakteri që shkakton infeksionin tuberkular (TB) ka një rritje të sasisë të ADA në zonën ku bakteri është i pranishëm. Qëllimi i këtij studimi konsiston në përcaktimin e rolit të shënjesit biologjik ADA në diferencimin efuzionit pleural të tipit tuberkular.

### **Materiali dhe metodat**

Studimit i'u nënshtruan 122 raste me efuzion pleural, që u analizuan gjatë periudhës 2010 - 2015. Për secilin prej tyre u morr rreth 20-30 ml lëng pleural nëpërmjet metodës së torakocentezës. Analiza e vlerës ( biokimike, citologjike) u vendos brenda 24 orëve nga marrja e lëngut. Bazuar në to, 102 raste u klasifikuan me efuzion pleural eksudat, dhe i'u nënshtruan analizave të shënjesit biologjik ADA. Për secilin rast u zhvillua dhe kultura, rezultatet e së

cilës u morrën pas 2 javësh. Këto rezultate së bashku me ekzaminimet e imazherisë, të shënjesit biologjik *interferon gamma* (INF $\gamma$ ), shërbejnë si bazë në diferencimin përfundimtar të efuzionit pleural tuberkular dhe jo tuberkular. Rezultatet e pëfituara nga INF $\gamma$  do të paraqiten në studime të tjera. Rastet e identifikuar me efuzion pleural eksudat në bazë klinikës u klasifikuan në suspekt tuberkular (25 raste) dhe jo tuberkular (77 raste).

Nivelet e shënjesit biologjik ADA u matën me metoda kolorimetrike. Rezultatet e marra u vendosën në tabelat përmbledhëse dhe iu nënshtuan analizave statistikore sipas programit Microsoft Office Excel (2007), SPSS versioni 20 (IBM statistics 2011). Të dhënat paraqiten si mesatare  $\pm$  deviacion standard (SD). Testi Mann - Witney U, u përdor për të vlerësuar ndryshimin e vlerave të ADA si në tipin e efuzionit pleural tuberkular dhe jo tuberkular të efuzionit pleural eksudat. Kurba ROC, u përdor për të investiguar vlerën e diagnozës, dhe testi quhet sinjifikant për  $p < 0.05$ ,  $\alpha = 5\%$ .

### **Rezultatet dhe diskutime**

Mosha mesatare e mostrës së analizuar në këtë studim është  $46.89 \pm 19.34$ , e përbërë nga 64 femra dhe 38 meshkuj. Frekuenca e femrave dhe meshkujve sipas grupit të marrë në studim, me tuberkuloz apo jo, paraqitet në figurën 1. Në figurën 2 paraqitet frekuenca e femrave dhe meshkujve sipas mesatares të shënjesit biologjik ADA. Shënjesi biologjik ADA u karakterizua nga një mesatare  $\pm$  SD ( $71.64 \pm 26.1$ ).

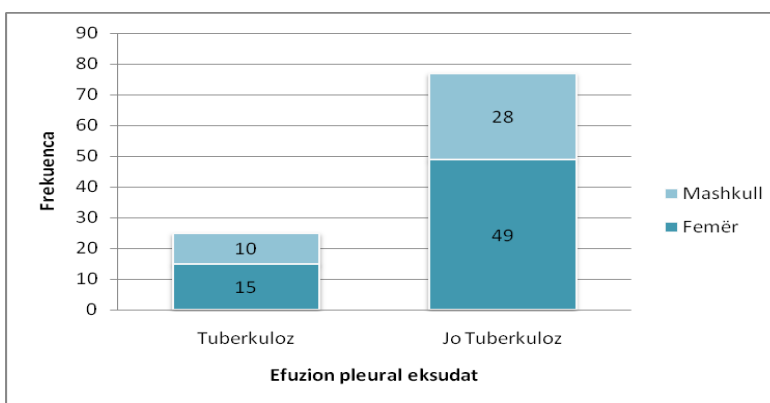
Shënjesi biologjik ADA rezultoi me vlera më të larta në grupin me efuzion pleural eksudat tuberkular ( $85.28 \pm 32.65$ ) IU/L, krahasuar me atë me efuzion pleural eksudat jo-tuberkular ( $62.22 \pm 22.09$ ) IU/L. Në figurën 3 paraqitet mesatarja e vlerave të ADA në lëngun pleural në rastin e grupeve me efuzion pleural eksudat tuberkular dhe jo-tuberkular. Shënjesi biologjik analizohet për mundësinë e ndryshimit të vlerave të tij në grupet e marra në studim, duke përdorur testin Mann-Witney U.

Rezultatet e testit janë,  $U = 670.000$ ,  $p = 0.023$ . Testi ka një  $p < 0.05$ , si pasojë testi rezulton sinjifikant, duke treguar që vlerat e ADA ndryshojnë në mënyrë ndjeshme midis dy grupeve.

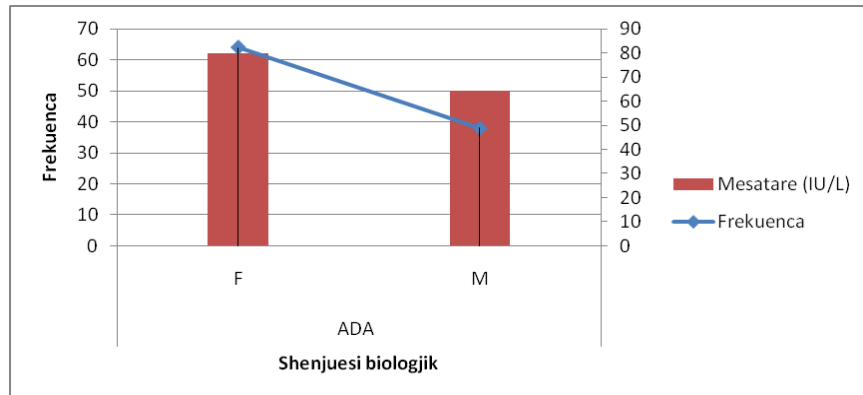
Të dhënat e pëfituara nga testi laboratorik i shënjesit biologjik ADA, ju nënshtuan vlerësimit statistikor, nëpërmjet ndërtimit të kurbës ROC, për vlerësimin e saktësisë të testit. Duke u bazuar në rezultatet e kurbës ROC, sipërfaqia nën kurbë  $AUC = 0.652$ ,  $p = 0.023$ , e cilëson këtë test të vlefshëm për të diferencuar grupin e pacientëve të indentifikuar me efuzion pleural tuberkular ose jo, por ky test është i një cilësie jo shumë të mirë për këtë dallim. Në këtë studim vlera kufi e vendosur për diferencimin e efuzionit tuberkular nga ai jo tuberkular është 72 IU/L me sensitivitetet dhe specificitetet përkatësisht 52% dhe 67.53%,

ADA është raportuar në shumë studime si test ndihmës në diagnostikimin e efuzionit pleural tuberkular, sepse në të njëjtën kohë janë raportuar dhe raste false pozitive, kjo duke qenë se ajo luan rol në mbrojtjen imunitare të organizmit (Castro *et al.*, 2003). Rezultatet e studimit tonë kanë mjaft ngjashmëri me studime ndërkombëtare dhe kombëtare si në studimin (Kapiszyzi *et al.*, 2011) për dallimin e dy grupeve tuberkular dhe jo tuberkular vlerësohet një cut off i ADA mbi 40 IU/L me sensitivitet dhe specificitet përkatësisht 89.7% dhe 28.8% dhe si një vlerë më e mirë si cut off cilësohet 95 IU/L me sensitivitet dhe specificitet përkatësisht 69.2% dhe 69.2%.

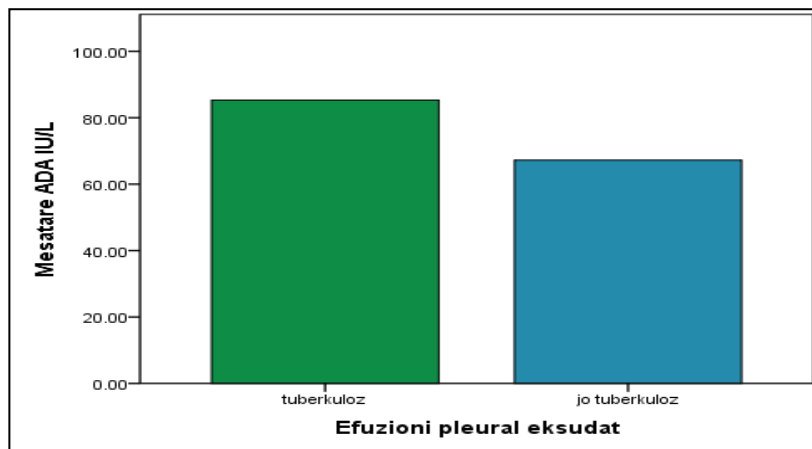
Rezultat të gjashëm me studimin tonë ndeshim dhe në studimin Boonyagars *et al.*, (2010) ku ADA përcaktohet si një enzimë nivelet e së cilës rriten në rast të tuberkulozit për shkak të stimulimit të qelizave T limfocite nga antigjeni mykobakterial. Në studimin Ren Tay (2013) për diferencimin e tuberkulozit nga grupi jo tuberkuloz propozohet vlera cut off 72 IU/L me sensitivitet dhe specificitet 95.10% dhe 87.5%, në (Helmy *et al.*, 2012) cilësohet cut off ADA 77.5 IU/L me sensitivitet 84.2% dhe specificitet 71.4%. Ka studime që raportojnë dhe raste me vlerë cut off 100 IU/L të tuberkular me jo tuberkular, (Verma *et al.*, 2008) me sensitivitet dhe specificitet përkatësisht 100 % dhe 77.7 %.



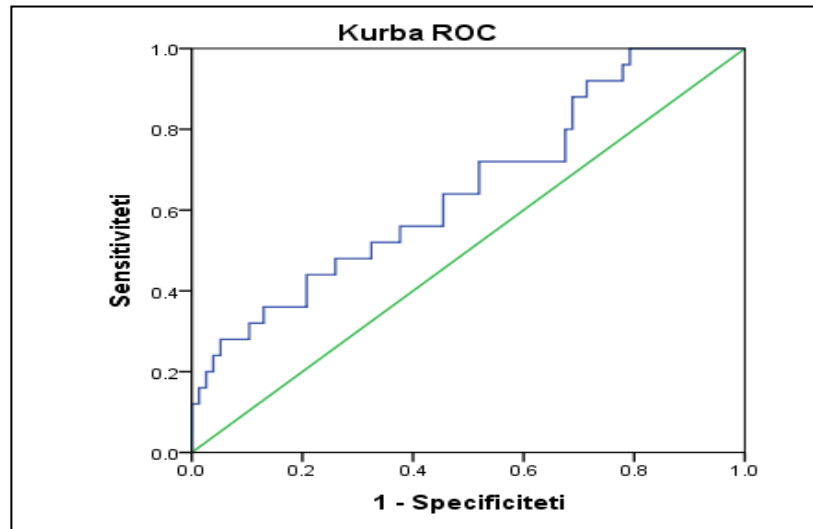
**Figura 1:** Frekuenca e femrave dhe meshkujve sipas tipit të efuzionit pleural eksudat



**Figura 2:** Frekuenca e femrave dhe meshkujve sipas mesatares së shënjesit biologjik ADA



**Figura 3:** Mesatarja e shënjesit biologjik ADA sipas tipit të efuzionit pleural eksudat



**Figura 4:** Kurba ROC e ADA në lëng, për efuzionin pleural eksudat tuberkuloz dhe jo tuberkuloz

### Përfundime

Bazuar në analizat e mësipërme arrihet në përfundimin se ADA është një shënjes me vlerë diagnostike për diferencimin e efuzionit pleural tuberkular, por nuk jo një shënjes absolut. Për diagnozën e efuzionit pleural tuberkular rezultatet e ADA duhet të plotësohen edhe me ato të shënjesve të tjerë si INFy ose citologjia.

### Literatura

Boonyagars L., Kiertiburanakul S. (2010): Use of Adenosine Deaminase for the Diagnosis of Tuberculosis: A Review. *Journal of Infectious Diseases and Antimicrobial Agents*. 27: 111-8

Castro J.D., Nuevo D.G., Pérez-Rodríguez E., Light R.W. (2003): Diagnostic value of adenosine deaminase in nontuberculous lymphocytic pleural effusions. *European Respiratory Journal*, 21: 220–224 DOI: 10.1183/09031936.03.00051603

Cristalli G, Costanzi S, Lambertucci C, Lupidi G, Vittori S, Volpini R, Camaioni E. (2001): Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors. *Medicinal Research Reviews* 21 (2): 105–128. DOI: 10.1002/1098-1128(200103)21

Helmy N.A., Eissa S.A., Masoud H.H., Ellessawy A.F., Ahmed B.I (2012): Diagnostic value of adenosine deaminase in tuberculous and malignant pleural effusion. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 61 (4), 413-417

Hovi T, Smyth J.F., Allison A.C., Williams S.C. (1976): Role of adenosine deaminase in lymphocyte proliferation. *Clinical and Experimental Immunology*, 23: 395-403

Kapisyzi P., Argjiri D., Aliko A., Beli J., Vakefliu Y., Roland K., Shehu E., Tafa H., Hasa R., Light R. (2011): The Use of Different Cutoff Values of ADA Liquid Level in Diagnosis of Tuberculous Pleurisy in Countries With Different Incidence of Tuberculosis. *Chest Journal*. 140(4)703A. doi:10.1378/chest.1108296

Light R.W. (2002): Clinical practice. Pleural effusion. In: *New England Journal of Medicine*, 346:1971–1977

Light R.W., Macgregor M.I., Luchsinger P.C., Ball W.C. (1972): Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 77 (4): 507–13. doi:10.7326/0003-4819-77-4-507

Ren Tay, T (2013): Factors affecting pleural fluid adenosine deaminase level and the implication on the diagnosis of tuberculous pleural effusion: a retrospective cohort study. *BMC Infectious Diseases* 546 DOI: 10.1186/1471-2334-13-546

Verma S. K., Dubey A. L., Singh P. A., Tewerson S. L., Sharma, D. (2008): Adenosine Deaminase (ADA) Level in Tubercular Pleural Effusion. *Lung India*. 25(3): 109–110. doi: 10.4103/0970-2113.44121

Wayne P.A. Laboratory detection and identification of mycobacteria; approved standard—first edition. CLSI document M48-A. Clinical and Laboratory Standards Institute 2008

World Bank. World development indicators Health risk factors and future challenges Available at <http://wdi.worldbank.org/table/2.20>

World Health Organization Tuberculosis. Fact sheet N°104 Available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/> Updated October 2015