

DERRAME PLEURAL: VALOR DOS EXAMES LABORATORIAIS NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL *

JOAO CARLOS PROLLA **

As cavidades pleurais são revestidas por uma camada única de células planas —o mesotélio — sob a qual encontra-se um tecido conjuntivo frouxo, com os vasos e nervos da pleura. Em condições normais, as duas superfícies, visceral e parietal, da pleura estão separadas por uma tênue camada de líquido, apenas suficiente para umedecê-las e facilitar o atrito entre ambas. Não é possível, pois, colher líquido pela punção pleural em tais condições. O acúmulo de líquido constitui o que chamamos de pleuris ou derrame pleural, e é por si mesmo, um achado patológico. Não podemos analisar o que chamaríamos de líquido pleural “normal”. O derrame acumulado na ausência de significativa alteração anatómica da pleura constitui o que chamamos “transudato”, que é “normal” sob o ponto de vista citológico e bioquímico. A alteração anatómica, inflamatória ou cancerosa, provoca um tipo especial de derrame, em geral chamado “exsudato”. Como podemos antecipar, a diferenciação entre estes dois tipos fundamentais de derrames já é um grande passo na elucidação da etiologia de um derrame. O aspecto macroscópico, a densidade e o teor proteico são as características mais fiéis em tal etapa. Para uma diferenciação mais discriminativa, deveremos lançar mão de métodos mais refinados. A distinção mais importante a ser feita em seguida é aquela entre os derrames benignos e malignos (cancerosos).

Procuraremos, no decurso das páginas seguintes, traçar as linhas gerais de tal diagnóstico diferencial, usando as técnicas laboratoriais. Naturalmente, a história clínica, o exame físico e a radiologia, são fundamentais e não precisam ter sua importância ressaltada aqui.

Com a diminuição da frequência do

pleuris tuberculoso nos jovens e o achado cada vez maior de pleuris em adulto idoso, tende a aumentar a dificuldade do diagnóstico diferencial. Ainda recentemente, a “Revue de Tuberculose” dedicou longo espaço à publicação de um seminário realizado na França (Hôpital Laennec), dedicado exclusivamente ao problema dos derrames crônicos em pacientes com mais de 50 anos, dando ênfase ao difícil diagnóstico diferencial. Na nossa opinião, este grupo de derrames oferece, além da maior dificuldade diagnóstica, a maior importância clínica.

Para se ter uma idéia da distribuição das etiologias em tal grupo de pacientes, é interessante analisar a série de Sahn e cols. (1). Em hospitais que não aceitam casos conhecidos de tuberculose, tais autores encontraram em 103 casos de derrame pleural, em pacientes com mais de 50 anos, 45 casos de carcinoma (43%) e 36 casos de insuficiência cardíaca congestiva (35%). O carcinoma brônquico foi a neoplasia mais comum: 25 casos. Infelizmente, não conhecemos nenhum trabalho, em cuja série de pacientes, não houvesse discriminação excluindo os casos de tuberculose. Podemos especular, entretanto, que as cifras de Sahn não sofreriam substancial alteração.

Em duas séries, relativamente recentes, de grande número de pacientes com derrame pleural, a etiologia ficou indeterminada em 17 e 38% dos casos: Leaulen e Carr (2), Tinney e Olsen (3).

Mesmo com o uso da punção biópsia com a excelente agulha Harefield, a percentagem de acertos não aumenta muito consideravelmente. Assim, nos 152 casos de Mestitz, Purves e Pollard (4), em que a biópsia foi feita com o fim específico de fornecer o diagnóstico, em apenas 67% dos casos o exame trouxe um resultado

* IV Cadeira de Clínica Médica da Fac. de Medicina de Porto Alegre (Catedrático Prof. José M. Job).
** O autor agradece a generosa colaboração e o constante estímulo do Prof. José Fernando Carneiro, da Cátedra de Tisiologia.

correto. Além disso, nos 30 casos de derrame maligno, a biópsia foi negativa em 10 ocasiões. Não se pode, pois, valorizar o resultado negativo. Os melhores resultados foram encontrados no grupo de pacientes com derrame tuberculoso: em 73 casos, a biópsia foi negativa em apenas 3 casos, sendo que dos 70 casos positivos, o exame bacteriológico tinha sido negativo em 45.

A afirmativa de Shaw e Hallet (5), de que não há mais razão para que alguns derrames sejam chamados de idiopáticos, nos parece otimista demais, confiando exageradamente na biópsia por punção, que, aliás, deu-lhe apenas 26% de diagnósticos da etiologia específica.

Os exames laboratoriais, com certa frequência, ajudam a elucidar os casos. Infelizmente, a frequência de achados típicos é pequena. Na maioria das vezes, o exame é apenas sugestivo de alguma etiologia e em outras ocasiões, raras é verdade, é decepcionante.

Devemos dizer que trabalho semelhante ao nosso, infelizmente sem bibliografia, foi publicado não há muito tempo atrás por Hinson (6). Este autor, assinala que 30 ml de líquido são em geral, suficientes para todos os exames, com exceção do bacteriológico, e que devem ser colhidos em vidro estéril.

Achamos conveniente separar três amostras: uma, de 20 ml, colhida em vidro seco com anticoagulante, para os exames bioquímicos e esfregaços; uma segunda, de 100 ml colhida em frasco preparado para a técnica de Papanicolaou, i. é., contendo igual quantidade de álcool a 50%; uma terceira, a maior possível, para os exames bacteriológico e macroscópico. Eventualmente, serão necessárias amostras especiais, quando se usarem técnicas não rotineiras.

Sob este ponto de vista, inclusive a técnica dos radioisótopos já foi tentada como meio diagnóstico. Assim, Taylor e cols. (7) acharam que no pleuris tuberculoso recente, quando se injeta P32, sob a forma de ortofosfato,

Contagens por minuto, do fluido sem células

Contagens por minuto do plasma

seria menor do que o encontrado em outras efusões. As razões disto são ainda

obscuras, e o método mostrou ser de limitado valor no diagnóstico diferencial dos derrames, confirmando impressões anteriores (8).

A inserção do derrame no contexto clínico está fora do escopo do presente artigo. Neste trabalho, queremos apenas analisar e rever o auxílio que os exames laboratoriais trazem na elucidação do diagnóstico diferencial dos derrames pleurais. Longe estamos de subestimar o valor dos outros métodos propedêuticos. Todo clínico conhece, por exemplo, a importância de uma história prévia ou atual de câncer de mama face a um derrame. A radiologia, por outro lado, é arma poderosíssima, desde que adequadamente feita. Todos nós conhecemos, por exemplo que a localização subpulmonar do derrame se observa mais frequentemente nos transudatos dos cardiopatas, pois aí a pleura está inteiramente livre.

EXAME MACROSCÓPICO

A) O aspecto, a cor e a consistência do líquido pleural são as primeiras características analisadas, em geral já na colheita do material. Tais características podem sugerir ao médico com experiência uma presunção diagnóstica, orientando-o no pedido dos exames químicos. Destacamos alguns tipos, baseados em tais propriedades físicas.

Um **aspecto cristalino**, de "água de rocha", sugere que se tenha puncionado um cisto hidático; o exame microscópico frequentemente confirmará a suspeita pelo encontro de vesículas ou escólecies.

No extremo oposto, o achado de um **líquido negro** ou negro azulado ocorre na antracose. É devido à presença de leucócitos carregados de grânulos de carvão ou mesmo de partículas de carvão livres (9).

O achado de um líquido brilhante, com **reflexos de ouro** "sui generis", aspecto este devido à presença, em suspensão, de cristais de colesterol em abundância, sugere que o derrame, em geral antigo, seja de etiologia tuberculosa. Guillermand (10) acredita que o colesterol derive dos complexos lipoproteicos da matéria caseosa, explicação pouco provável para os derrames de etiologia não tuberculosa, ou pelo menos sem lesão pleural suficiente para justificar a alta concentração de colesterol. Coe e Aikawa (11), em sua revisão da literatura e em suas experiências

com colesterol marcado ràdioativamente, não conseguiram demonstrar a exata patogenia dêste curioso tipo de derrame seroso.

Um líquido lactescente, tanto pode ser devido a um pleuris quiloso (quilotórax), como a um pleuris quiliforme. O quilotórax foi definido, junto com a ascite quilosa (12), como tendo:

1.º) Gotículas de gordura ao exame microscópico.

2.º) Um teor de gordura (em média 3,04g%) pelo menos maior que o do plasma e um teor de proteínas (em média 3,38g%) em tórno de metade do teor plasmático.

3.º) Origem em uma fistula linfática (traumática ou obstrutiva).

Hinson (6), aconselha para o diagnóstico do quilotórax traumático, uma nova aspiração, três a quatro horas após a ingestão pelo paciente, de 100 mg de Sudan III em 10 g de manteiga. As partículas gordurosas aparecerão coradas intensamente. Parece que um modo mais fácil e rápido de diagnosticar o derrame quiloso é misturá-lo, em partes iguais, com éter: após agitação desaparece o aspecto leitoso, e o líquido fica bem mais límpido.

O derrame quiloso não traumático (obstrutivo) é, em geral, neoplásico. É interessante notar, que sendo o quilo uma substância bacteriostática, o quilotórax é sempre estéril, não havendo na literatura nenhum registro de quilotórax infectado.

É oportuno lembrar a classificação de Levi e Parker (13) do quilotórax:

1. Quilotórax traumático:

- a) Traumatismo fechado (p. ex., fratura de costela ou vértebra)
- b) Traumatismo aberto (p. ex., cirurgia)
- c) Feridas penetrantes do tórax.

2. Quilotórax não traumático:

- a) Tumor invasivo
- b) Doença vascular (p. ex., trombose da veia subclávia)
- c) Doenças inflamatórias (como tuberculose).

3. Quilotórax espontâneo ou congênito:

Defeito congênito do sistema linfático.

O quilotórax que ocorre na assim chamada "Enteropatia exsudativa", em aproximadamente 18% dos casos relatados (14) não teve ainda sua patogenia perfeitamente esclarecida. Os autôres têm-no explicado, assim como tôda a síndrome, por uma permeabilidade congênitamente exagerada dos linfáticos, o que não explicaria o desaparecimento espontâneo, em alguns casos, do quadro clínico (15).

O pleuris quiliforme, assim como a ascite quiliforme, caracterizam-se pela ausência de gotículas de gordura. Por outro lado, contém células em degeneração gordurosa, alto teor em colesterol e proteínas. Aliás, o derrame com reflexos de ouro (colesterólico), acima referido, deve ser um estágio posterior de muitos derrames quiliformes. Estes, são na maioria das vezes, devidos à tuberculose, neoplasia ou nefrose.

Um pleuris hemorrágico, excluída a etiologia traumática, sugere em primeiro lugar a origem neoplásica. Aliás, no derrame traumático recente, temos na realidade sangue puro, ao passo que o pleuris hemorrágico é um derrame de tipo exsudato, mais ou menos rico em hemácias. Já Dieulafoy, ensinava que 6.000 hemácias por ml dão côr rosada ao derrame. Haverá casos em que teremos dúvida entre pleuris hemorrágico e hemotórax, tal a riqueza em glóbulos.

Na série de Leaulen e Carr (2), a ocorrência de neoplasia no pleuris hemorrágico foi de 62%. Berliner (16) encontrou 78 casos, ou sejam 65%, de neoplasias nos seus 120 casos. Cabitt (17), apresenta cifras da mesma ordem, se excluirmos os seus casos de etiologia traumática.

É interessante assinalar que os mesoteliomas malignos da pleura dão quase invariavelmente pleuris hemorrágico.

A segunda causa, em frequência, de pleuris hemorrágico é a tuberculose, e logo a seguir, vem a insuficiência cardíaca, esta, especialmente se acompanhada de infarto pulmonar.

Não devemos esquecer, que qualquer derrame puncionado várias vezes pode tornar-se hemorrágico, só por êste fato. No grupo das curiosidades, temos o achado de derrame hemorrágico no escorbuto

(18), na cirrose hepática (19), e na pancreatite (20-24).

Um hemotórax sem fibrina, i.é, incoagulável, com crises periódicas, concomitantes com a menstruação, de febre, dispnéia e dor torácica, é o quadro clínico da extremamente rara endometriose pleural com pleuritis hemorrágico (25, 26). A endometriose do parênquima pulmonar, mais comum, apresenta o quadro clínico da hemoptise recorrente no período menstrual. Vale a pena recordar que a ocorrência de endometriose pleural, sem lesão no pulmão, é um dos argumentos da teoria da metaplasia serosa (diferenciação anormal do mesoderma celômico de Iwanoff) como explicação da endometriose.

A diferenciação entre hemotórax e pleuritis hemorrágico pode tornar-se uma questão puramente acadêmica, se lembrarmos que o sangue do hemotórax coagula invariavelmente e age como um corpo estranho, provocando a formação de um exsudato secundário. Sellors (27) examinou o fluido do hemotórax diariamente, a partir da formação, e viu que enquanto a hemoglobina caía rapidamente após o terceiro dia, o teor em fibrinogênio subia progressivamente, chegando a ser maior do que o do sangue periférico. Estas alterações resultam do derrame secundário provocado pelo sangue na cavidade pleural. Resulta disto, que o líquido pleural é capaz de coagular durante a segunda semana novamente (coagulação secundária). A errônea falta de aspiração pode levar, como todos os cirurgiões de tórax sabem, à formação de adesões fibrinosas de desagradáveis consequências (28).

Freqüentemente, encontramos um líquido amarelo, que forma espuma, e com as mais diversas etiologias possíveis: tuberculose, neoplasias, insuficiência cardíaca, doenças renais, collagenoses, etc..

Um pleuritis purulento, ocorre nos empiemas, fato que não necessita maior elaboração. Apenas lembramos que o derrame pleural da artrite reumatóide pode ter aspecto purulento, sendo estéril (29). Com o abandono do pneumotórax, o empiema, como complicação da tuberculose pulmonar, ocorre bem mais raramente hoje em dia. É uma rara complicação da cirurgia pulmonar na tuberculose, o *Staphylococcus aureus* sendo o responsável por 3/5 de tais casos (30).

B) A densidade e a capacidade de formar coágulos são as propriedades que se costumam analisar em seguida. Um líquido que não coagula e com densidade em geral inferior a 1015, é típico do grande grupo dos transudatos (mas pode ocorrer também em derrames malignos).

Uma pequena formação de coágulo e uma densidade entre 1015 e 1018, ocorre freqüentemente nos derrames neoplásicos ou transudatos anteriormente punccionados, ainda que estéreis.

A rápida formação de coágulo e densidade acima de 1018 (exsudato) tanto ocorrem nas doenças inflamatórias como neoplásicas.

Embora possa parecer pedantismo, não queremos deixar de lembrar a importância da correção da densidade do líquido quando este tiver, no momento da leitura, temperatura diferente daquela na qual o densímetro foi calibrado (em geral 20°C). Se o derrame estiver ao redor de 36°C, ainda "quente", a leitura será apreciavelmente baixa. Acreditamos que esta fonte de erro tem sido freqüentemente descurada.

EXAME BACTERIOLÓGICO

No peluris tuberculoso, a possibilidade de obter um exame bacteriológico positivo depende muito da colheita: o depósito da centrifugação de 200 ou 300 ml, cultivado em 12 vidros de cultura, oferece o máximo de positividade. Mestitz e Pollard (31) tabularam os resultados da literatura, não encontrando diferença significativa entre a cultura e a inoculação em cobaio. Além disto, a percentagem de positividade de um ou ambos os métodos, em séries grandes, oscila bastante. Concluem estes autores, pela pequena validade do método, valorizando mais a biópsia pleural e o exame citológico.

O exame bacteriológico, face à sua pequena percentagem de positividade, só tem valor quando positivo.

Um fator importante a considerar é o local da punção: devemos escolher o ponto de mais declive do tórax, onde seja possível punccionar. Os autores, classicamente, chamam a atenção para o fato de que os bacilos encontram-se em maior concentração nestas zonas, onde caem pela ação da gravidade. Fato semelhante é apontado por citologistas (32).

EXAME CITOLÓGICO

Esta fase do exame dos derrames pleurais é a mais promissora, e provavelmente a única capaz de dar um diagnóstico seguro de malignidade, excluída a biópsia, cujas limitações já indicamos. O exame citológico dos derrames serosos, por outro lado, é uma das tarefas mais árduas que pode tocar a um citologista.

O líquido pleural contém fundamentalmente dois tipos de células: as células mesoteliais e as células sanguíneas, isto é, leucócitos. A análise de ambos os tipos de células permite a obtenção de valiosas informações sobre a etiologia do derrame. As características das células mesoteliais ou células malignas exfoliadas, permite o diagnóstico dos derrames malignos, ao passo que a análise dos leucócitos permite freqüentemente o diagnóstico diferencial dos derrames benignos.

A técnica mais usada na citologia exfoliativa é a de Papanicolaou, ou mínimas modificações da mesma. A contagem diferencial dos leucócitos é a do simples esfregaço corado pelas técnicas usuais da hematologia.

Técnica do esfregaço

A centrifugação de 20 ml de líquido pleural adicionados a mais ou menos 4 ml de citrato de sódio a 3,8% (nunca usar oxalato), permite a leitura, com o depósito, de uma lâmina corada pelos métodos clássicos da hematologia (leucograma). O uso de amostras sem o anticoagulante é bastante mais difícil porque os coágulos formados praticamente impossibilitam a feitura do exame. Analisaremos a seguir, uma série de diagnósticos presuntivos, possíveis com esta técnica.

a) Predominância de **polimorfonucleares**: pneumonia bacteriana. Mestitz e Pollard (31) não aceitam esta interpretação e valorizam o achado apenas como um dado contra o diagnóstico de tuberculose.

b) **Eosinofilia pleural**: apesar de conhecida desde os trabalhos pioneiros de Widal e Ravaut (33), a eosinofilia pleural ainda é pouco entendida, os citologistas não tendo entrado em acôrdo quanto à sua definição. Assim, para Robertson (34), são necessários 50% de eosinófilos no derrame, enquanto que para Spriggs (35), 20% já é uma cifra aceitável, con-

siderando que 10% é um achado comum e relativamente sem significado. A afirmativa de MacMurray e cols. (36), de que bastam 5% de eosinófilos, levaria a uma exagerada freqüência, com perda de toda a especificidade.

Tomando um mínimo de 20%, Spriggs (35) encontrou 37 casos de pleuris eosinofílico nos 636 casos estudados, o que dá uma cifra de 6%, como freqüência do pleuris eosinofílico. Robertson (34), usando a cifra mais acauteladora de 50%, obteve uma freqüência de 3,2%. Se excluirmos os casos de derrame pós-pneumônico de Spriggs (quase todos com menos de 50% de eosinófilos) as cifras dos dois autores ficam praticamente iguais. A nosso ver, pois, o critério de Spriggs é aceitável, e seguindo-o, teremos apenas uma incidência levemente superior, à custa de maior número de derrames pós-pneumônicos incluídos.

Na série de Spriggs (35), os seus casos tiveram a seguinte distribuição:

Pneumotórax e hemotórax	12
Derrame pós-pneumônico	5
Malignidade	5
Infarto pulmonar	4
Causa desconhecida	11
Total	37

Além destes 4 grupos clássicos de etiologia do derrame eosinofílico (pneumotórax e hemotórax, derrame pós-pneumônico, derrame maligno, infarto pulmonar), agrupados sob a denominação de derrame eosinofílico secundário por alguns autores, um quinto grupo vem sendo identificado ou interpretado, sob vários nomes, entre os quais o de derrame eosinofílico primário. Tal derrame acompanha várias moléstias e síndromes, tendo por denominador comum um componente "alérgico" ou de hiperimunidade. Whiman (37) acha que estes derrames "alérgicos" têm característico aspecto histológico e citológico, com eosinofilia e células gigantes multinucleadas. Outra característica deste grupo é a eosinofilia no sangue periférico, que raramente acompanha os outros tipos de derrame eosinofílico.

É possível que o tempo venha a demonstrar erro no agrupamento de tão diversas causas de derrame eosinofílico num só grupo, mas atualmente, não temos modo de separá-los:

- Derrame pleural da asma brônquica (38-40);
- Derrame pleural da periarterite nodosa e outras collagenoses (38, 41);
- Derrame pleural das parasitoses (42-46) ou da síndrome de Löeffler (47);
- Derrame pleural acompanhando pericardite reumática (48, 49);
- Derrame pleural da coccidioidose (50) e histoplasmose (51).

A frequência com que estes derrames têm apreciável grau de eosinofilia é difícil de estabelecer. Estas causas são citadas para que na presença de um derrame eosinofílico, elas sejam lembradas no diagnóstico diferencial, dentro do contexto clínico.

O achado de um derrame eosinofílico afasta a etiologia tuberculosa com bastante certeza. O derrame pós-primário praticamente nunca é eosinofílico. Os casos relatados na literatura de derrame tuberculoso eosinofílico ocorrem invariavelmente após pneumotórax artificial, prática desaparecida do armamentário antituberculoso moderno.

Em resumo, podemos classificar os derrames eosinofílicos em 2 grupos:

1) **Causa geral ou sistêmica** (com eosinofilia no sangue periférico): Pulmão eosinofílico, síndrome de Löeffler, etc.

2) **Causa local** (sem eosinofilia no sangue periférico):

Derrame pós-pneumônico, pneumotórax, infarto pulmonar, etc. A doença de Hodgkin faz exceção neste grupo, tendo frequentemente eosinofilia sanguínea.

c) **Linfocitose pleural**: o achado de mais de 70% de linfócitos em derrame recente que ainda não recebeu terapêutica antituberculosa, é altamente sugestivo de tuberculose (52); a segunda possibilidade sendo linfoma e doenças correlatas (53, 54). A presença de células mesoteliais, em número apreciável, leva à suspeita de neoplasia (especialmente carcinoma brônquico) e na opinião de Spriggs (52) praticamente exclui a tuberculose.

d) **Células L. E.** — Ocorrem no derrame do lupus eritematoso sistêmico (55-57).

Sulavik e Katz (56) dão particular ênfase a este achado, já que o consideram patognomônico do lupus eritematoso sistêmico, não tendo a falta de especificidade do achado no sangue periférico.

A teoria da existência de uma "pleurite lúpica" recebeu considerável apóio com o trabalho de Gueft e Laufer (58), que demonstraram histologicamente a presença de inclusões citoplasmáticas coráveis pela hematoxilina, na pleura de pacientes com lupus.

e) **Células mesoteliais**: as células mesoteliais raramente ocorrem em número preponderante, em geral sob a forma de grandes grupos de células degeneradas. Na opinião de Spriggs (35), este achado ocorre no derrame do infarto pulmonar.

As células mesoteliais dos derrames de tipo transudato, i.é., sem qualquer reação pleural são ditas normais. Alguns autores têm criticado o uso de tal denominação, sustentando que são células que ocorrem no decurso de um processo patológico e portanto não podem ser chamados normais. Na nossa opinião, tal uso é perfeitamente correto, pois a pleura de onde derivam tais células, não apresenta nenhuma anormalidade no seu mesotélio.

As células mesoteliais normais podem ser diferenciadas daquelas que ocorrem nos exsudatos e derrames malignos. As células mesoteliais dos derrames inflamatórios não purulentos, em geral não ultrapassam 3% do número total de células presentes. As formas multinucleadas são comuns e não é impossível se ver figuras mitóticas. Isto, e mais um certo grau de atipia celular, leva frequentemente à suspeita errônea de uma metástase pleural ou um mesotelioma (54, 59). Por tais características, elas têm sido chamadas "células mesoteliais reativas" (54).

O derrame tuberculoso é tipicamente pobre ou mesmo sem células mesoteliais (52). Como já dissemos, a associação de linfocitose pleural com apreciável número de células mesoteliais faz pensar em carcinoma brônquico. Por paradoxal que pareça, sua presença na linfocitose pleural, afasta também com relativa segurança um linfossarcoma ou uma leucemia linfóide (60).

f) **Células cardíacas**: em derrame de insuficiência cardíaca congestiva, podemos encontrar as "células cardíacas"

(macrófagos contendo pigmento hemático).

g) **Células de Reed-Sternberg:** as células gigantes, com núcleos conspícuos, descritas por Sternberg e Reed nos cortes histológicos da doença de Hodgkin, podem ser encontradas também nos derrames pleurais de tais pacientes. Entretanto, elas não são específicas e podem ser encontradas nos derrames de outros tipos de linfomas, especialmente no reticulosarcoma (53).

h) **Células malignas:** analisaremos logo a seguir, junto com a técnica de Papanicolaou, que as demonstra com maior facilidade. Como já dissemos, o maior problema do citologista é diferenciá-las das células mesoteliais.

Citologia dos derrames malignos

Já referimos que o achado de um pleuris hemorrágico ou a associação, ao exame citológico, de linfocitose com grande número de células mesoteliais, levam à suspeita de origem maligna do derrame. Um terceiro método, é encontrar células malignas ao exame citológico, usando uma das diversas técnicas em uso.

Técnica "hematológica" — Na excelente monografia de Spriggs (35), o leitor interessado encontrará a descrição minuciosa dos critérios morfológicos de malignidade pela técnica "hematológica". Tanto esta técnica, como a de Papanicolaou, encontram grande dificuldade na análise do líquido pleural suspeito. Ocorre que as células mesoteliais da pleura freqüentemente descamam em grumos, mostram figuras mitóticas ou mesmo formas bizarras. Isto torna o diagnóstico de malignidade ou benignidade mais difícil do que em qualquer outra localização.

Nos 103 casos de Spriggs (35), o exame citológico foi positivo em 73 ocasiões e negativo (falso negativo) em 30 ocasiões. Não há referência a falsos positivos. A série dele inclui também derrames peritoneais, mas isto não invalida qualquer conclusão referente aos derrames pleurais, pois não há diferença morfológica entre as células mesoteliais.

Técnica de Papanicolaou — Sua precisão foi recentemente analisada por von Haam (61). No seu laboratório de citologia, em 359 derrames serosos, de etiologia comprovadamente maligna, um resultado positivo ou fortemente sugestivo foi

obtido em 322, ou sejam 89,7%. O exame do líquido pleural deu uma percentagem mais alta de positivos (91,2%) que o exame do líquido ascítico (89%). A freqüência de falsos negativos foi de 10,3% (37 casos). Em 209 derrames serosos benignos, um resultado falsamente positivo foi obtido 19 vezes, i.é., em 9,1%. É interessante notar que a precisão de von Haam em apontar a origem dos tumores metastáticos, desconhecida até a ocasião do exame citológico do derrame seroso, foi de 65,6%. Infelizmente êle não tabulou tais casos, pois talvez fôsse muito instrutivo saber que tumores são mais facilmente reconhecíveis.

Sob este ponto de vista, vale a pena analisar o trabalho de Foot (62). Em 144 casos de derrame por tumor metastático pleural, a etiologia do tumor primário foi distribuída como segue:

- 51 casos de cancer de mama
- 49 casos de carcinoma brônquico
- 13 casos de "linfoma" (latu sensu)
- 10 casos de cancer de ovário
- 21 casos de etiologia diversa (miscelânea)

A exatidão do exame citológico em afirmar corretamente a origem do tumor primitivo foi assim distribuída:

- 77% nos derrames do cancer brônquico
- 70% nos derrames do cancer de mama
- 66% nos derrames do grupo "linfoma"
- 58% nos derrames do cancer de ovário

Como vemos, nos grupos mais numerosos, carcinoma brônquico e cancer de mama, a diferenciação é possível em apreciável número de casos. Cumpre lembrar que esta exatidão depende muito da experiência e meticulosidade do citologista, convindo citar que Foot dedicou seus últimos anos de vida quase exclusivamente a este tema.

O derrame pleural que ocorre no decurso dos linfomas e doenças correlatas foi analisado retrospectivamente por um citologista do mesmo grupo de Foot. Em 55% de tais derrames foi feito o diagnóstico positivo correto (53), já portanto em menor número de vezes.

É oportuno lembrar que a diferenciação entre linfomas e outros tipos de tumores malignos é algo mais do que acadêmica, importando em terapêutica substancialmente diferente.

Outras técnicas — Como um critério puramente morfológico, revela-se insuficiente em pelo menos 10% dos casos nas mãos dos melhores citologistas, uma série de métodos histoquímicos estão sendo estudados: uso do Azure C (63), uso do reagente de Schiff (62, 65, 66), o uso do corante fluorescentes, etc. Dêstes métodos, o que mais estudo tem merecido, pelo caráter promissor, é o do uso da "acridina-orange", ardentemente propalado por Bertalanffy (67-70).

O método está baseado nas propriedades metacromáticas do corante fluorescente, que cora diferentemente os dois tipos de ácidos nucleicos da célula: além do critério morfológico, o método introduz um novo critério histo-químico, i.é., o teor em ácido ribonucleico (RNA) do citoplasma.

As células malignas proliferantes caracterizam-se por um conteúdo de RNA que excede de muito aquele das células não malignas (71). O corante demonstra o ácido desoxiribonucleico (DNA) nuclear por uma fluorescência verde ou amarelada, e o RNA do citoplasma e nucléolos por uma fluorescência que vai do marron avermelhado ao vermelho vivo, de acordo com as crescentes concentrações de RNA. As células com pequeno grau de RNA (células epidérmicas normais, p. ex.) dão fluorescência citoplasmática verde; as células de ritmo mitótico moderado dão fluorescência marron-avermelhado. Em contraste, as células com alta atividade mitótica e grande síntese proteica, dão forte fluorescência alaranjada ou vermelho vivo, flamejante mesmo.

As comparações entre o método clássico de Papanicolaou e o acridina orange estão sendo feitas em grande escala. As conclusões provisórias dão como vantagens do método de von Bertalanffy: 1) método de coloração simples e rápido; 2) redução no tempo gasto em cada exame; 3) utilização de uma combinação de critérios citoquímicos e morfológicos. As desvantagens apontadas são: 1) nem todas as células malignas mostram igual fluorescência vermelha e certas células benignas mostram forte fluorescência vermelha, levando falsos positivos com

certa frequência; 2) o método não se presta para triagem de grande número de esfregaços; 3) alto custo do método. (67-70, 72-77).

As desvantagens apontadas, mais o fato de que na citologia ginecológica o Papanicolaou é indiscutivelmente melhor, provavelmente impedirão o uso generalizado dos métodos de fluorescência, que tornar-se-ão uma curiosidade bibliográfica, apesar do formidável esforço em contrário dos seus adeptos.

De qualquer modo, achamos muito difícil que uma técnica citológica venha a alcançar nos derrames pleurais, os soberbos resultados da citologia ginecológica. A principal razão para assim pensarmos já foi enfatizada por Takagi (78): os tumores metastáticos da pleura, em especial o carcinoma brônquico, são frequentemente recobertos por cápsula fibrosa, que torna muito pouco provável a exfoliação de células malignas no derrame.

As outras técnicas citadas no início deste parágrafo destinam-se em geral a diferenciar as células mesoteliais das células malignas. Assim, Foot (62) em seu último trabalho mostrou que as células mesoteliais podem ser diferenciadas pelo reagente de Schiff (ácido periódico). Ele confirmou os resultados de Cullen (65), de que o citoplasma das células mesoteliais contém grânulos PAS-positivos em sua periferia. As células cancerosas, às vezes coram-se também, mas de um modo mais difuso, sem formar grânulos.

A análise cromossômica, é outra interessante e promissora técnica, que poderá vir a ser de considerável valia no diagnóstico dos derrames, especialmente quando os outros critérios citológicos tenham sido esgotados em vão (79).

EXAME BIOQUÍMICO

Grande tem sido o número de análises bioquímicas propostas para o estudo dos derrames serosos. Infelizmente, nenhuma delas é típica de qualquer etiologia. Na prática clínica, a segurança oferecida é pequena: seja pela ampla variação dos resultados na mesma doença, seja pela ausência de diferença significativa entre as doenças. Entretanto, às vezes, as informações obtidas são suficientes para uma decisão terapêutica ou diagnóstica.

1) Proteínas totais

Os transudatos recentes ou nunca puncionados, raramente terão teor de proteínas superior a 2,5g%. No grupo dos exsudatos e neoplasias, a variação é muito grande. Em geral, os exsudatos de origem inflamatória terão teor proteico acima de 3,0g%. O pleuris tuberculoso não se destaca do grupo dos exsudatos por diferença significativa no teor proteico total.

Uma observação de certo valor diagnóstico é a de que um derrame tuberculoso praticamente nunca tem teor proteico total inferior a 3,0g% (80).

2) Fracionamento eletroforético

Últimamente, o estudo do fracionamento eletroforético das proteínas contidas nos derrames serosos tem sido intensamente abordado por inúmeros pesquisadores (81-86). Buscam eles, pela análise dos resultados, obter padrões eletroforéticos do sôro e derrames, característicos das diversas etiologias. Infelizmente, os resultados não têm correspondido aos esforços. Em linhas gerais, podemos dizer que o fracionamento eletroforético não ajuda no diagnóstico diferencial dos derrames.

As alfa-2-globulinas parecem ser a fração mais promissora. Acredita-se mesmo, que uma redução no teor de tal fração no derrame, comparado com o teor do sôro, seja achado específico, ou pelo menos altamente sugestivo, dos derrames neoplásicos (82). Esta redução, torna-se mais evidente pela elevação das alfa-2-globulinas no sôro dos cancerosos, elevação correlacionada com o aumento das mucoproteínas (83). Ainda aqui a regra tem exceções: o derrame tuberculoso crônico e o derrame do infarto pulmonar também apresentam queda das alfa-2-globulinas (84).

3) Haptoglobinas

A determinação no derrame pleural dos níveis das haptoglobinas não trouxe nenhuma vantagem no diagnóstico diferencial, apesar dos interessantes aspectos patogênicos do problema (87).

4) Determinações de níveis enzimáticos

a) Deidrogenase do ácido láctico.

As palavras entusiásticas de Wróblewski (88-91) sobre o uso da desidrogenase láctica no diagnóstico diferencial dos derrames serosos não foram confirmadas pelos demais pesquisadores (92-94). O coeficiente

atividade enzimática do fluido seroso

atividade enzimática do sôro

sendo maior do que 1, é chamado "positivo" ou "maligno". Quando menor do que 1, é dito "negativo" ou "benigno".

Nas duas séries de Wróblewski (88, 89), os achados podem ser assim tabulados:

1.ª série:

50 derrames benignos	coeficiente negativo
9 derrames malignos (citologia positiva):	coeficiente positivo
6 derrames malignos (citologia negativa):	coeficiente negativo

2.ª série:

27 derrames benignos	coeficiente negativo
21 derrames malignos (citologia positiva):	coeficiente positivo
10 derrames malignos (citologia negativa):	coeficiente negativo
4 derrames diversos (citologia negativa):	coeficiente positivo

Como vemos, há uma alta incidência de falsos negativos, paralelamente aos mesmos falsos negativos da citologia, o uso combinado de ambas técnicas não trazendo nenhuma vantagem. Wróblewski valorizou o resultado positivo como praticamente diagnóstico de malignidade. Na realidade, há apenas um falso positivo nas séries dele, mas o método não oferece ajuda maior do que a citologia, pois, há perfeita sobreposição dos falsos negativos.

Em 1959, Kirkeby e Prydz (92) encontraram resultados menos encorajadores com o uso da desidrogenase láctica. Assim, em 22 derrames malignos, o coeficiente foi negativo em 6 ocasiões, e em 25 derrames benignos, o coeficiente foi

positivo (falso positivo) em 5 ocasiões. Concluíram os autores pelo pequeno valor do método no diagnóstico diferencial dos derrames serosos.

Esta opinião, foi confirmada recentemente por Horrocks e cols. (93), examinando 38 casos de derrame pleural de origem maligna e 24 de origem benigna. Eles concluíram também pela ineficácia do método: presença de falsos negativos em um terço dos derrames malignos e um alto índice de falsos positivos (80%) nos derrames de origem inflamatória.

b) **Amilase.** É relativamente freqüente o encontro de derrame pleural, em geral à esquerda, no decurso da pancreatite aguda (20, 21, 95-105) e da pancreatite recorrente (crônica) (22, 23, 106-108).

A freqüência do derrame pleural na pancreatite tem sido relatada variadamente. Lipp e Aarpm (95) dão a cifra de 39%, cifra que nos parece exagerada, especialmente se levarmos em conta que seus dados baseiam-se mais no exame físico do que na radiologia. Hammarster (96) encontrou 14%, mas em apenas 8% dos casos o diagnóstico foi feito antes da autópsia. Outras séries (97-108, 20-23) dão cifras entre 2,5% e 7,3%. Sulavik e Katz (56), tabularam os dados de 4 séries da literatura e encontraram uma freqüência combinada de aproximadamente 6%: 27 casos em um total de 443.

Como já dissemos acima, o derrame é mais freqüente à esquerda. O volume do derrame é em geral moderado, com raras exceções (104). O derrame é do tipo exsudato, mas poderá ser hemorrágico como já citamos em outro local deste trabalho, ou quiloso (107). Já referimos também o achado de derrame pleural eosinofílico (24).

A amilase encontrada no líquido pleural tem certamente origem pancreática. Entretanto, ainda não se sabe ao certo como lá chega, existindo várias teorias explicativas, cuja discussão seria por demais longa para incluímos aqui. O leitor interessado poderá ver o excelente resumo crítico de tais teorias na monografia de Sulavik e Katz (56).

A determinação do nível de amilase no líquido pleural pode ser de considerável valia no diagnóstico. Principalmente se levarmos em conta que os valores, no decurso da pancreatite, são bem mais altos no derrame do que no sangue. As-

sim, p. ex., nos casos de Hammarsten (96), enquanto a média para o pleuris era de 14.334 unidades por 100 ml, o soro tinha apenas 367 unidades por 100 ml como média. Além disto, em outras doenças com derrame pleural, o valor da amilase no derrame é comumente inferior ao valor sérico.

N. Ende (109, 110) que se tem dedicado muito ao estudo da atividade amilolítica dos tumores, chamou a atenção para o fato de que cifras elevadas de amilase nos derrames serosos de origem neoplásica, na ausência de pancreatite ou carcinoma do pâncreas. Este autor dá a cifra de 60 unidades por cento como significativa, em qualquer derrame seroso, de doença primária do pâncreas ou carcinoma metastático não relacionado com o pâncreas. Nos seus 100 casos, 26 tinham mais de 60 unidades por cento. Dêstes, 14 eram carcinomas não associados com o pâncreas ou parótidas. As neoplasias pulmonares contribuíram com o maior número, seis adenocarcinomas e um carcinoma de células escamosas. O característico mais contante dêstes casos era a grande carcinomatose linfangítica.

É interessante notar que recentemente um caso de derrame pericárdico no decurso de pancreatite aguda, foi visto com teor elevadíssimo de amilase, o que levou os autores a postularem uma analogia com os casos de derrame pleural (111).

5) Determinação do nível de glicose

Barber e cols. (112), em 70 casos de pleuris tuberculoso com cultura positiva, encontraram uma média de 26mg%, os limites sendo entre 10 e 48mg%. Em 14 casos com cultura negativa, mas com outras evidências inequívocas de tuberculose, encontraram uma média de 108mg%, os limites sendo entre 85 e 120mg%. Para êstes autores, o nível ao redor de 26mg% pode ser considerado crítico. Valores iguais e especialmente inferiores a êste, indicariam provável etiologia tuberculosa, com alta chance de darem cultura positiva. Índices de 80mg% ou mais, indicariam etiologia não tuberculosa. Naturalmente, isto só seria válido na presença de glicemia normal, pois, a hiperglicemia eleva o teor de glicose no líquido pleural em geral.

Não acreditamos no valor desta de-

terminação no diagnóstico do pleuris tuberculoso. Os níveis da ordem de 26mg% são vistos com relativa raridade, e mais do que isto têm sido vistos em outras moléstias. Assim, o pleuris da artrite reumatóide foi encontrado com valores de glicose desta ordem (113-115). Glenert (116) é da mesma opinião, pois em 40 casos de derrame não tuberculoso, encontrou 10 casos com cifras abaixo de 60 mg%, em média 32mg%. Observou também que os casos de baixo teor de glicose tinham por característica comum o alto teor em células e espessamento pleural. O primeiro fator seria responsável pela glicólise aumentada e o segundo impediria a difusão da glicose plasmática para o espaço pleural o que tenderia a restabelecer o equilíbrio.

Acreditamos também, que o valor prognóstico que se quiz dar a esta determinação (117), desapareceu inteiramente com o advento da moderna quimioterapia antituberculosa.

6) Ácido hialurônico

Em prosseguimento aos trabalhos pioneiros de Meyer (118), a presença de ácido hialurônico no mesotelioma maligno da pleura tem recebido ultimamente a atenção de pesquisadores atuais (119, 120). O teste baseado em tal propriedade tem-se revelado positivo em todos os casos comprovados e negativo em todos os outros tipos de derrame testados. Infelizmente, o teste mostrou-se negativo com a progressão da moléstia. Somente, pois, o resultado positivo pode ser valorizado. O teste, aliás bastante simples, deverá revelar-se útil na diferenciação entre adenocarcinoma metastático e mesotelioma maligno da pleura, freqüente enigma para o clínico e o patologista.

Na mesma linha de pensamento, a diferenciação histológica, baseada na presença do ácido hialurônico, tem sido tentada. Baseia-se o método no fato de que a hialuronidase remove a metacromasia obtida com a Azure A ou com a coloração de Hale somente se o tecido corado for mesotelioma, isto é, rico em ácido hialurônico. Os tumores metastáticos não perdem a metacromasia.

7) Enzimas mais recentemente tentadas

Além da deidrogenase láctica e da

amilase, outras enzimas têm sido tentadas como método diferencial dos derrames.

a) **Leucino-aminopeptidase.** — O pequeno número de determinações que a literatura registra (121) mostram que embora o teor médio de tal enzima nos derrames de origem cancerosa seja superior aquêle dos derrames benignos, o valor isolado em um caso não tem significado diagnóstico.

b) **Beta-glucuronidase.** — Fishman e cols. (122) encontraram valor diagnóstico na determinação desta enzima nos derrames não centrifugados, com significativo aumento nos derrames cancerosos. Mais recentemente, Pineda e cols. (121) não conseguiram confirmar tal interpretação. Mas, achamos que os dois trabalhos não são inteiramente comparáveis: Pineda usou líquido seroso centrifugado e um substrato diferente. O uso de material centrifugado nos parece de capital importância no caso de Pineda. O material não centrifugado, usado por Fishman era certamente muito mais rico em células, cujo teor enzimático pode ter sido criticamente importante.

Recentemente, Brauer e cols. (123) avaliaram o uso da determinação da atividade de 8 enzimas — transaminases glutâmico-oxaloacética e glutâmico-pirúvica, aldolase, isomerase (fósforo-hexoses), deidrogenases málica, láctica e isocítrica, redutase glutatônica — no diagnóstico diferencial dos derrames benignos e malignos. Os resultados indicam claramente que tais determinações não diferenciam os derrames benignos dos malignos.

Não acreditamos que se venha a descobrir um enzima cuja atividade nos derrames serosos permita tal diagnóstico diferencial e julgamos uma certa perda de tempo insistir em tal tecla.

CONCLUSÃO

Na prática clínica, i. é., fora das condições algo artificiais da pesquisa, é claro que não faremos todos os testes acima enumerados. Mas, um mínimo de análises será prudente efetuar sempre.

1) Tentar determinar se estamos na presença de um **exsudato** ou **transudato** (aspecto, densidade e teor proteico total, são as características mais úteis e simples de determinar).

2) Sempre que possível, fazer **exame bacteriológico**, dado que o resultado positivo é extremamente importante, quando presente.

3) O **exame citológico** é arma fundamental, especialmente no importante e difícil grupo dos derrames crônicos dos pacientes com mais de 50 anos de idade. Nunca é demais reprimir que este grupo tende a aumentar cada vez mais, dada a relativa diminuição da frequência do derrame tuberculoso, o aumento da incidência do carcinoma brônquico e a sempre alta incidência do carcinoma de mama.

O quadro incluído como Adendo, traduz na opinião do autor, as linhas gerais do diagnóstico diferencial dos der-

rames baseado nos exames laboratoriais do líquido colhido.

Para encerrar, lembramos que, mesmo com o uso de todos os exames citados, ainda assim alguns derrames ficarão sem diagnóstico, pelo menos até que a evolução natural do processo fundamental traga a resposta, infelizmente muito tarde para uma terapêutica eficaz. O uso sistemático da biópsia pleural deverá diminuir consideravelmente a frequência de tais casos, pois feita por pessoal experimentado, deverá dar material suficiente para um exame histológico em 85% dos casos, e em 50% dos casos levará a um diagnóstico correto e completo, em apreciável número dos quais, desconhecido até então.

A D E N D O

LIQUIDO AMARELADO	{	Cultura positiva (M. tuberculosis)	1*
		Citologia positiva (Cancer)	2
	{	Cultura negativa	
		Citologia negativa { Transudatos	3
		Intermediários	4
		Exsudatos	5
PLEURIS HEMORRAGICO	{	Cultura positiva (M. tuberculosis)	1
		Citologia positiva (Cancer)	2
	{	Cultura negativa	
		Citologia negativa { Coagulável	6
		Incoagulável	7
LIQUIDO LACTESCENTE	{	Citologia positiva (Cancer)	2
		Derrame em geral estéril	
	{	Citologia negativa { Quilotórax	8
		D. quilliforme	9
ASPECTO PURULENTO	{	Cultura positiva (M. tuberculosis)	1
		Cultura positiva (Bact. piogênicas)	10
		Cultura negativa	11

* ETIOLOGIAS MAIS PROVÁVEIS (pela ordem de maior probabilidade):

- 1 — Tuberculose
- 2 — Neoplasias
- 3 — Insuficiência cardíaca, cirrose, nefrose, collagenoses, neoplasias
- 4 — Idem, e mais tuberculose
- 5 — Tuberculose, neoplasias
- 6 — Neoplasias, tuberculose, insuf. card., infarto pulmonar, hemopatias
- 7 — Endometriose pleural
- 8 — Neoplasias, tuberculose, defeito congênito sist. linfático
- 9 — Tuberculose, neoplasia, nefrose
- 10 — Empiema piogênico (Staph. aureus), associado ou não c/tuberculose
- 11 — Empiema piogênico tratado (antibióticos), artrite reumatóide.

SUMMARY

In this paper, through a critical analysis based upon 123 bibliographical references, the author tries to establish a considered value for the laboratory findings in cases of pleural effusion concluding with a scheme of directives for the differential diagnosis of pleurisy.

BIBLIOGRAFIA

1. Sahn, S. H., Leichtling, M. e Bass, H. E.: The significance of pleural effusion in patients past the age of fifty. *New England J. Med.* **246**: 927, 1952.
2. Leuallen, E. C., Carr, D. T.: Pleural effusions; statistical study of 436 pacientes. *New England J. Med.* **252**: 79, 1955.
3. Tinney, W. S. e Olsen, A. M.: The significance of fluid in the pleural space. *J. Thoracic Surg.* **14**: 248, 1945.
4. Mestitz, P., Purves, M. J. e Pollard, A. C.: Pleural biopsy in the diagnosis of pleural effusion. *Lancet* **2**: 1349, 1958.
5. Shaw, R. K. e Hallet, W. Y.: Biopsy of parietal pleura. *Amer. J. Med. Sci.* **241**: 593, 1961.
6. Hinson, K. F. W.: Examination of pleural fluid. *The Practitioner* **186**: 260, 1961.
7. Taylor, A. J., Pearson, J. D. e Veall, N.: The use of radioactive phosphorus in the diagnosis of pleural effusions. *Brit. J. Tuberc.* **52**: 281, 1958.
8. Bauer, R. E., Moss, I. H. e Richardson, A. D.: A study of radioactive phosphorus activities in pleural effusions. *Cancer* **7**: 852, 1954.
9. Rubinstein, P.: *Patologia de las pleuras; con un apendice sobre la Patologia de la Fascia Endotorácica*. Ed. Beta, Buenos Aires, 1952.
10. Guillermand, J., Groulade, J. e Ziave, D.: Les pleurésies à cristaux de cholesterol. *Poumon et Coeur* **18**: 359, 1962.
11. Coe, J. E. e Aikawa, J. K.: Cholesterol pleural effusion. *Arch. Int. Med.* **108**: 763, 1961.
12. Nix, J. T., Albert, M., Dungas, J. E. e Wendt, D. L.: Chylothorax and chylous ascites; study of 302 selected cases. *Amer. J. Gastroent.* **28**: 40, 1957.
13. Levi, W. M., Jr. e Parker, E. F.: Postoperative chylothorax. *Amer. Surg.* **25**: 960, 1959.
14. Gordon, R. S. Jr., Barter, F. C. e Waldmann, T.: Idiopathic hypoalbuminemias: Clinical staff conference at the National Institutes of Health. *Ann. Int. Med.* **51**: 533, 1959.
15. Donaldson, R. M., Jr., e Holt, P. R.: Idiopathic protein-losing enteropathy in an adult, with apparently complete recovery. *Amer. J. Med.* **34**: 572, 1963.
16. Berliner, K.: Hemorrhagic pleural effusions; an analysis of 120 cases. *Ann. Int. Med.* **14**: 2266, 1941.
17. Cabitt, H. L.: Hemothorax: its relations to primary carcinoma of the lung. *J. Thoracic Surg.* **10**: 590, 1941.
18. Rozner, W., Lloyd, E.: Hemorrhagic pleural effusion as a manifestation of scurvy. *Lancet* **2**: 393, 1958.
19. Christian, H. A.: Bloody pleural fluid, an unudual complication of cirrhosis of the liver. *Trans. Ass. Amer. Phys.* **52**: 167, 1937.
20. Byrd, B. F., Jr., Couch, O. A., Jr.: Pancreatitis with rupture of the spleen and hemorrhagic pleural effusion. *J.A.M.A.* **157**: 1112, .. 1955.
21. Saunders, S. J., Lanzkowsky, P.: Hemorrhagic pleural effusion in acute pancreatitis. *South African M. J.* **30**: 1069, 1956.
22. Smith, E. B.: Hemorrhagic ascites and hemothorax associated with benign pancreatic disease. *Arch. Surg.* **67**: 52, 1953.
23. Werner, H.: Pankreatogene Pleuritis. *Zentralbt. ges. inn. Med.* **63**: 577, 1942.
24. Langeron, P., Prévost, A. G., Oudor, H.: Pancréatite calcifiante avec obstruction canalaire et hydropancreatose (Épanchement pleural à éosinophiles). *Presse Med.* **67**: 2131, 1959.
25. Nicholson, H.: Endometriosis of the pleura. *Thorax* **6**: 75, 1951.

26. Barnes, J.: Endometriosis of the pleura and ovaries. *J. Obst. & Gynec. Brit. Empire* 60: 823, 1953.
27. Sellers, T. H.: Hemothorax. *Lancet* 1: 143, 1945.
28. Harold, J. T.: Intrapleural hemorrhage in artificial pneumothorax. *Thorax* 6: 162, 1951.
29. Cudkewicz, L., Madoff, I. M., Abelman, W. H.: Rheumatoid lung disease. *Brit. J. Dis. Chest* 55: 35, 1961.
30. Paine, A. L., Zajcew, W.: Empyema complicating pulmonary tuberculosis. *Amer. Rev. Tuberc.* 78: 411, 1958.
31. Mestitz, P., Pollard, A. C.: The diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Brit. J. Dis. Chest.* 53: 86, 1959.
32. Lageze, P., Galy, R., Touraine, R., Tissot, T., Taine, R.: Le diagnostic positif des pleuritisies cancéreuses isolées cliniquement primitives (A propos de 25 observations). Valeur de la cytologie pleurale et de la biopsie sous pleuroscopie. *Rev. Lyon Med.* 9: 233, 1960.
33. Widal e Ravaut: Applications cliniques de l'étude histologique des épanchements séro-fibrineux de la plèvre. *Compt. rend. Soc. de Biol.* 52: 648, 1900.
34. Robertson, R. F.: Pleural eosinophilia. *Brit. J. Tuberc.* 48: 111, .. 1954.
35. Spriggs, A. I.: The cytology of effusions in the pleural, pericardial and peritoneal cavities. Grune & Stratton, New York, 1957.
36. Mac Murray, F. G., Kats, S., Zimmerman, H. J.: Pleural fluid eosinophilia. *New England J. Med.* 243: 330, 1950.
37. Whiman, G.: A contribution to the knowledge of the cellular content in exudates and transudates. *Acta Med. Scand.* 130 (suppl. 205), 1948.
38. Gentilini, M., Turiaf, J.: Les pleurésies a cellules éosinophiles. *Rev. Practicien* 12: 1593, 1962.
39. Harkavy, J.: Vascular allergy. *J. Allergy* 14: 507, 1943.
40. Harkavy, J.: Vascular allergy. *Arch. Int. Med.* 67: 709, 1941.
41. Giard, P., Clerc, A., Criquette, J.: Pleuropneumopathies à éosinophiles et périarterite noueuse. *J. Franc. Med. Chir. Thorac.* 9: 91, 1955.
42. Lavergne, V. de, Abel, E., Debenedetti, R.: Eosinophilie pleurale au cours de un abcès amibien du poumon. *Bull. méd. Paris:* 593, 1930.
43. Cordier, V., Morenas, L.: Eosinophilie pleurale symptomatique d'un abcès hépatique amibien évacué par vomique. Constatacion d'Entamoeba dysenteriae dans l'expectoration. *Compt. rend. Soc. Biol.* 104: 198, 1930.
44. Nagel, O.: Ein Beitrag zur Pathologie der flüchtigen Lungeninfiltrate mit Bluteosinophilie. *Beitr. Klin. Tuberk.* 96: 185, 1941.
45. Bauman, H.: Eosinophile Pleuritis bei flüchtigen, eosinophylen Lungeninfiltrat. *Schweiz. med. Wchnschr.* 74: 326, 1944.
46. Reinikainen, M.: Exudative pleurisy with eosinophilia. *Ann. med. int. Fenniae* 36: 145, 1947.
47. Crofton, J. W., Livinstone, J. L., Oswald, N. C.; Roberts, A.T.M.: Pulmonary eosinophilia. *Thorax* 7: 1, 1952.
48. Perkins, J. J., Dudgeon, L. S.: A case of eosinophilic pleurisy. *Trans. Path. Soc. London* 58: 119, 1907.
49. Rist, E., Kindberg, L.: Deux cas d'éosinophilie pleurale. *Bull. mén. Soc. méd. hôp. Paris* 28: 693, 1909.
50. Curran, W. S., Williams, A. W.: Eosinophilic pleural effusion. A clue in differential diagnosis. *Arch. Int. Med.* 111: 809, 1963.
51. Stead, W. W., Eichenholz, A., Strauss, H. K.: Operative and pathologic findings in 24 patients with syndrome of idiopathic pleurisy with effusion, presumably tuberculous. *Amer. Rev. Tub.* 71: 473, 1955.
52. Spriggs, A. I., Boddington, M. M.: Absence of mesothelial cells from tuberculous pleural effusions. *Thorax* 15: 169, 1960.
53. Melamed, M. R.: The cytological presentation of malignant lymphomas and related diseases in effusions. *Cancer* 16: 413, 1963.
54. Perou, M. L., Littman, M. S.: Diagnostic study of serous effusions with emphasis on some unusual findings. *Amer. J. Clin. Path.* 25: 467, 1955.

55. van Doormaal, T. A. J., Schreuder, J. T. R.: Über die sogenannte Erythematodeszelle und deren Vorkommen in der Pleuraflüssigkeit bei einer an "Lupus Erythematodes disseminatus acutus (subacutus)" leidenden Patientin. *Dermatologica* 101: 167, 1950.
56. Sulavik, S., Katz, S.: Pleural Effusion. Some infrequently emphasized causes. Charles C. Thomas Publish., Springfield, 111, 1963.
57. Katz, S.: Some infrequently emphasized causes of pleural effusion. *G. P.* 18: 138, 1958.
58. Gueft, B., Laufer, A.: Further cytochemical studies in systemic lupus erythematosus. *Arch. Path.* 57: 201, 1954.
59. Luse, S. A., Reagan, J. W.: Histo-cytological study of effusions. I. Effusions not associated with malignant tumors. *Cancer* 7: 1155, 1954.
60. Luse, S. A., Reagan, J. W.: Histo-cytological study of effusions. II. Effusions associated with malignant tumors. *Cancer* 7: 1167, 1954.
61. von Haam, E.: A comparative study of the accuracy of cancer cell detection by cytological methods. *Acta Cytol.* 6: 508, 1962.
62. Foot, N. C.: The identification of mesothelial cells in sediments of serous effusions. *Cancer* 12: 429, 1959.
63. Ayres, W. W.: A method of staining nucleoli of cells in fresh benign and malignant tissues. *Cancer Res.* 8: 352, 1948.
64. Foot, N. C.: Identification of types and primary sites of metastatic tumors from exfoliated cells in serous fluids. *Amer. J. Path.* 30: 661, 1954.
65. Ceelen, G.: PAS reaction as aid in interpretation of pleural and abdominal cytology. In *Transactions of the Fifth Annual Meeting of the Inter-Society Cytology Council*, 1957; pp 135-138.
66. Mavrommatis, F. S.: The identification of mesothelial cells by the technic of Mowry. *Acta Cytol.* 6: 443, 1962.
67. Bertalanfey, L. von, Masin, M.: Use of acridine orange fluorescence technique in exfoliative cytology. *Science* 124: 1024, 1956.
68. Bertalanfey, F. D.: Cytodiagnosis of cancer using acridine-orange with fluorescence microscopy. *CA* 10: 118, 1960.
69. Bertalanfey, F. D.: Fluorescence microscopy for cytodiagnosis of cancer. *Post-Grad. Med.* 28: 627, 1960.
70. Bertalanfey, F. D.: Fluorescence microscope method for detection of pulmonary malignancies. *Canad. M. A. J.* 83: 211, 1960.
71. Chargaff, E., Davidson, J. N. (eds.): *The nucleic acids; Chemistry and Biology*. 2 vols. Acad. Press, New York, 1955.
72. Hunter, D. T., Jr., Brown, N.: Morphology of benign cells as observed through the acridine-orange fluorescence technic. *Acta Cytol.* 5: 250, 1961.
73. Connally, H. F., Wall, J. A.: A comparative cytologie study. Acridine-orange versus Papanicolaou technique. *Texas S. J. M.* 56: 846, 1960.
74. Bertalanfey, F. D.: Diagnostic reliability of the acridine-orange fluorescence method for cytodiagnosis of cancer. *Cancer Res.* 21: 422, 1961.
75. Umiker, W., Pickle, L.: The cytologic diagnosis of lung cancer by fluorescence microscopy. Acridine-orange fluorescence technic in routine screening and diagnosis. *Lab. Invest.* 9: 613, 1960.
76. Grubb, C., Crable, J. G. S.: Fluorescence microscopy in exfoliative cytology. *Brit. J. Cancer* 15: 483, 1961.
77. Wied, G. L., Mangano, J. I.: A comparative study of the Papanicolaou and the acridine-orange fluorescence method. *Acta Cytol.* 6: 554, 1962.
78. Takagi, F.: Studies on tumor cells in serous effusions. *Amer. J. Clin. Path.* 24: 663, 1954.
79. Ishihara, T., Sandberg, A. A.: Chromosome constitution of diploid and pseudodiploid cells in effusions of cancer patients. *Cancer* 16: 885, 1963.
80. Zinneman, H. H., Johnson, J. J., Lyon, R. H.: Proteins and muco-

- proteins in pleural effusions. *Amer. Rev. Tuberc.* 76: 247, 1957.
81. Spak, I.: On the clinical value of chemical analysis of ascites. *Acta Chir. Scand.* (suppl. 261), 1960.
 82. Watkins, M. D.: A comparison of proteins in serum and pleural fluid. *Brit. J. Tuberc.* 52: 170, 1958.
 83. Taipale, E., Hokkaman, E.: The mucoprotein levels of the ascitic and pleural fluids and their clinical significance. *Acta. Med. Scand.* 155: 113, 1956.
 84. Taylor, A. J.: Electrophoretic analysis of serous pleural effusions, *Thorax* 13: 169, 1958.
 85. Carr, D. T., Power, M. H.: Clinical value of measurements of protein in pleural fluid. *New England J. Med.* 259: 926, 1958.
 86. Luetscher, J. A., Jr.: Electrophoretic analysis of the proteins of plasma and serous effusions. *J. Clin. Invest.* 20: 99, 1941.
 87. Owen, J. A., Padanyi, R.: Haotoglobins in pleural and ascitic fluids. *Clin. Chim. Acta* 8: 145, 1963.
 88. Wróblewski, F.: The clinical significance of alterations in lactic dehydrogenase activity of body fluids. *Amer. J. Med. Sci.* 234: 301, 1957.
 89. Wróblewski, F., Wróblewski, R.: The clinical significance of lactic dehydrogenase activity of serous effusions. *Ann. Int. Med.* 48: 813, 1958.
 90. Wróblewski, F.: Mechanisms of alteration in lactic dehydrogenase activity of body fluids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 75: 322, 1958.
 91. Wróblewski, F.: Increasing clinical significance of alterations in enzymes in body fluids. *Ann. Int. Med.* 50: 62, 1959.
 92. Kirkeby, K., Prydz, H.: Lactic dehydrogenase in pleural and peritoneal effusions. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 11: 185, 1959.
 93. Horrocks, J. E., King, J., Waind, A. P. B., Ward, J.: Lactate dehydrogenase activity in the diagnosis of malignant effusions. *J. Clin. Path.* 15: 57, 1962.
 94. Asada, M., Galambos, J. T.: Clinical value of lactic dehydrogenase activity in diagnosis of malignant effusion. *Amer. J. Dig. Dis.* (N. S.) 7: 1001, 1962.
 95. Lipp, W. E., Aaron, A. H.: Acute pancreatitis: further observations of value in its recognition. *New York S. J. Med.* 50: 2043, 1950.
 96. Hammarsten, J. F., Honska, W. L., Jr., Limes, B. J.: Pleural fluid amylase in pancreatitis and other diseases. *Amer. Rev. Tuberc. Pulm. Dis.* 79: 606, 1959.
 97. Roseman, D. M., Kowlessar, O. D., Sleisenger, M. H.: Pulmonary manifestations of pancreatitis. *New England J. Med.* 263: 294, 1960.
 98. Coffey, R. J.: Unusual features of acute pancreatic disease. *Ann. Surg.* 135: 715, 1952.
 99. de Takats, G., Mackenzie, W. D.: Acute pancreatic necrosis and its sequelae: Critical study of 30 cases. *Ann. Surg.* 96: 418, 1932.
 100. Stein, G. N., Kalser, M. H., Sarian, N. N., Finkelstein, A.: Evaluation of roentgen changes in acute pancreatitis: correlation with clinical findings. *Gastroenterology* 36: 354, 1959.
 101. Fishbein, R., Murphy, G. P., Wilder, R. J.: The pleuropulmonary manifestations of pancreatitis. *Dis. Chest.* 41: 392, 1962.
 102. Bockus, H. L., Bogoch, A., Roth, J. L. A.: Acute-pancreatitis: Diagnosis and treatment. *South. Med. J.* 46: 388, 1953.
 103. Schieppati, E.: El derrame pleural en las pancreatitis agudas. *Bol. y Trab. Acad. Argent. Cir.* 30: 1115, 1946.
 104. Heraud, M., Guerrin, F.: Pleurésie abondante au cours d'une pancréatite aigue. *Arch. Mal. Appar. Dig.* 48: 1797, 1959.
 105. Swerdlow, A. B., Berman, M. E., Gibbel, M. I., Valaitis: Subcutaneous fat necrosis associated with Acute pancreatitis. *J. A. M. A.* 173: 765, 1960.
 106. Kalser, M. H., Roth, J. L. A., Bockus, H. L.: Relapsing pancreatitis with pseudocyst of pancreas and enzyme-containing pleural effusion. *Gastroenterology* 28: 842, 1955.
 107. Evans, H. W.: Painless chronic pancreatitis, chylo-ascites and chylothorax. Report of a case. *Am. J. Med. Sci.* 240: 494, 1960.

108. Juniper, K.: Chronic relapsing pancreatitis with associated marked eosinophilia and pleural effusion. *Amer. J. Med.* **19**: 648, 1955.
109. Ende, N.: Studies of amylase activity in pleural effusions and ascites. *Cancer* **13**: 283, 1960.
110. Ende, N.: Amylase activity in body fluids. *Cancer* **14**: 1109, 1961.
111. Warter, J., Weill, J. P., Storck, D.: Épanchement péricardique d'origine pancreatique. *Presse Méd.* **70**: 255, 1962.
112. Barber, L. M., Mazzadi, L., Deakins, D. D., Reese, C. N., Rogers, W. L.: Glucose levels in pleural fluid as a diagnostic aid. *Dis. Chest.* **31**: 680, 1957.
113. Carr, C., Power, M.: Pleural fluid glucose; special reference to its concentration in Rheumatoid pleurisy with effusion. *Dis. Chest.* **37**: 321, 1960.
114. Schools, G. S., Mikkelsen, W. M.: Rheumatoid pleuritis. *Arthr. & Rheum.* **5**: 369, 1962.
115. Carr, D. T., Mayne, J. G.: Pleurisy with effusion in Rheumatoid Arthritis with reference to the low concentration of glucose in pleural fluid. *Amer. Rev. Resp. Dis.* **85**: 345, 1962.
116. Glenert, J.: Sugar levels in pleural effusions of different etiologies. *Acta. Tuberc. Pneumol. Scand.* **42**: 222, 1962.
117. Nassau, E.: Diagnostic and prognostic value of estimations of free sugar in pleural effusions. *Tubercle* **22**: 249, 1941.
118. Meyer, K., Chaffee, E.: Hyaluronic acid in pleural fluid associated with malignant tumor involving pleura and peritoneum. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **42**: 797, 1939.
119. Wagner, J. C., Munday, D. E., Harrington, J. S.: Histochemical demonstration of hyaluronic acid in pleural mesotheliomas. *J. Path. Bacteriol.* **84**: 73, 1962.
120. Harrington, J. S., Wagner, J. C., Smith, M.: The detection of hyaluronic acid in pleural fluid of cases with diffuse pleural mesotheliomas. *Brit. J. Exper. Path.* **44**: 81, 1963.
121. Pineda, E., Goldberg, J. A., Levitan, R., Rutenburg A. M.: Leucine aminopeptidase and Beta-glucuronidase activity in cancerous and noncancerous effusions. *Amer. J. Dig. Dis. (N. S.)* **7**: 797, 1962.
122. Fishman, W. H., Markus, R. L., Page, O. C., Pfeiffer, P. H., Homburger, F.: Studies on effusions. I. Glucuronidase and lactic acid in neoplastic effusions of pleura and peritoneum. *Amer. J. Med. Sci.* **220**: 55, 1950.
123. Brauer, M. J., West, M., Zimmerman, H. J.: Serum enzymes in disease. XIII — Comparison of glycolytic and oxidative enzyme and transaminase values in benign and malignant effusions with those in serums. *Cancer* **16**: 533, 1963.