

ELETROFORESE EM PAPEL DAS PROTEÍNAS DO LÍQUIDO CEFALORRAQUEANO E SEU VALOR PRÁTICO EM CLÍNICA NEUROLÓGICA

JOÃO BAPTISTA DOS REIS
ANTONIO BEI
ISNARD DOS REIS FILHO

A eletroforese em papel, pela sua simplicidade técnica, permitiu a utilização d'êste método complementar mesmo pelos pequenos laboratórios. A sua aplicação ao líquido cefalorraqueano, entretanto, encontrou uma pequena dificuldade, resultante da pobreza habitual do líquido em proteínas. Por isso é necessário que o líquido seja previamente concentrado de tal forma que se assemelhe ao soro sanguíneo.

MATERIAL E MÉTODOS

O processo de concentração do líquido por nós adotado (fig. 1) consiste em uma modificação daqueles propostos por Mies³ e Schönberg². Este método baseia-se na ultrafiltração sob pressão negativa, utilizando-se membrana dialisante de colódio especialmente preparada. Com êste processo conseguimos reduzir 5 ml de líquido a 0,05 ml em um tempo de 1,5 a 2 horas, o que representa fator importante no trabalho, pois permite rapidez na obtenção do resultado e oferece mais segurança quanto à possível desnaturação das proteínas nesta fase. A perda de proteínas nesta etapa é, em média, de 15% e se processa igualmente à custa de todas as frações.

Devido à diversidade de métodos adotados pelos diversos pesquisadores, observa-se certa variação do conceito de normalidade. Assim é necessário que cada laboratório, uma vez padronizado o seu processo, estabeleça o seu conceito de normalidade para poder interpretar corretamente os perfis eletroforéticos em casos patológicos.

Nosso material é constituído de 300 pacientes, normais e portadores de diversas afecções neurológicas (quadro 1).

RESULTADOS

Segundo nossa experiência, o perfil eletroforético normal para o líquido cisternal é representado pelos seguintes valores: pré-albumina 2-7% (0,2 a 1,8 mg%); albumina 47-64% (4,7 a 16 mg%); globulina alfa₁ 3-8% (0,3 a 2,0 mg%); globulina alfa₂ 5-11% (0,5 a 2,8 mg%); globulina beta 11-25% (1,1 a 6,3 mg%); globulina

Trabalho do Serviço de Neurologia da Escola Paulista de Medicina (Prof. Paulino W. Longo), apresentado à I Reunião da Academia Brasileira de Neurologia (Curitiba, 1963).

gama 6-11% (0,6 a 3,0 mg%); relação albumino-globulina 1,0 a 2,0. Para o liquor lombar os limites superiores em mg% são: albumina 27,6; alfa₁ 3,5; alfa₂ 4,7; beta 10,8; gama 5,6. Este nosso conceito de normalidade está, de um modo geral, de acôrdo com aquêle admitido por numerosos pesquisadores^{1,2,3,8,9,10}.

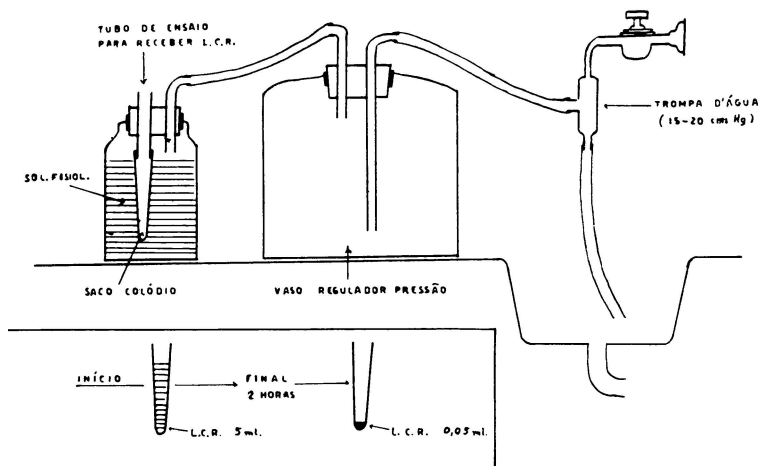


Fig. 1 — Aparelho para concentração do liquor.

| Diagnóstico | Nº de casos |
|---------------------------------------|-------------|
| Cisticercose encefálica | 39 |
| Compressão raqueana | 32 |
| Meningites agudas, piogênicas | 30 |
| Hemorragia intracraniana | 24 |
| Tumor encefálico | 20 |
| Neurolues parenquimatosa | 19 |
| Polirradiculoneurite | 18 |
| Meningite tuberculosa | 15 |
| Tumor maligno encefálico | 10 |
| Criptococose do sistema nervoso | 3 |
| Diversos | 36 |
| Normais | 54 |

Quadro 1 — Material.

Analisando nosso material patológico de modo semelhante como o fizeram Maitier e Schmidt⁴, em função da percentagem de gama-globulina, verificamos fatos idênticos aos constatados por êsses pesquisadores (gráfico 1). Estes estudos demonstravam que, na prática da clínica neurológica, o elemento fundamental do perfil eletroforético cuja variação tinha importância definida no diagnóstico diferencial era a gama-globulina. Procuramos, pois, ampliar estas investigações, fazendo estudo comparativo das diversas frações em valores absolutos. Para isso pesquisamos em nosso material global a existência de correlação entre as diversas frações proteicas expressas em mg%. Foi verificada correlação bilogarítmica retilínea entre albumina e as diversas frações das globulinas, porém em relação à gama-globulina

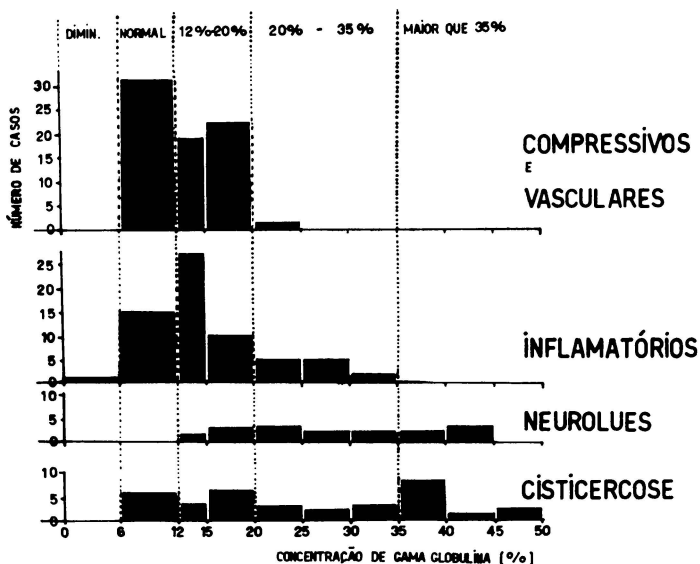


Gráfico 1 — Distribuição de concentrações relativas de gama-globulina em diversas condições patológicas.

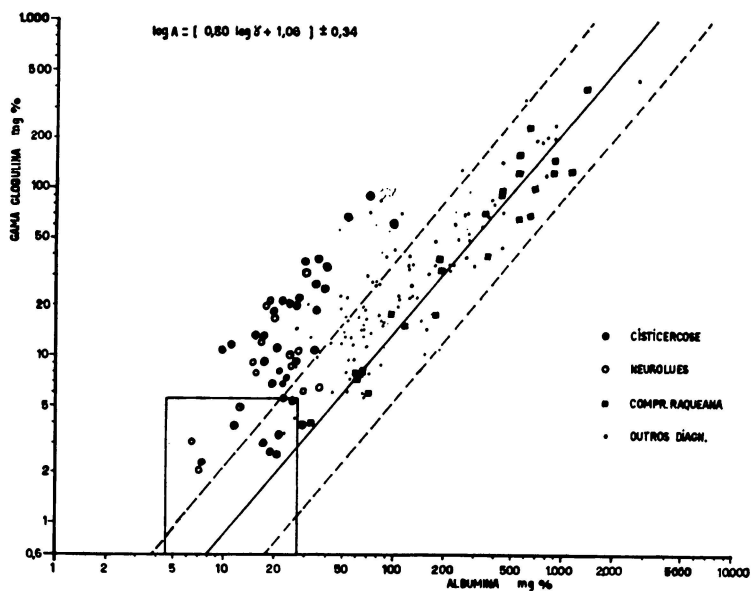


Gráfico 2 — Eletroforese do LCR. Distribuição das concentrações de gama-globulina em valores absolutos em diversas condições patológicas.

observou-se maior dispersão dos dados. Enquanto os gráficos de correlação albumina/alfa-globulina e albumina/beta-globulina não mostravam distribuição peculiar dos valores, em relação às diversas entidades neurológicas estudadas, o gráfico de correlação albumina/gama-globulina evidenciava distribuição relativamente discriminada das concentrações de gama-globulina, em relação a dois grupos de moléstias. Por esse motivo procuramos analisar com maior minúcia este último gráfico.

Tomando os números obtidos nos casos de compressão raqueana como base e considerando que estes líquidos de estase mostram muito bem os casos puros de alteração do perfil eletroforético decorrente de perturbação da barreira hêmato-encefálica, calculamos a equação de regressão e verificamos que praticamente todos os casos de neurolues parenquimatosa e de cisticercose encefálica mostravam valores não explicados pela regressão calculada; apenas alguns casos com taxa de proteínas normal ou no limite superior de normalidade obedeciam à regressão. Os casos inflamatórios eram na maioria explicados pela regressão, havendo, entretanto, numerosos casos que apresentavam valores muito altos de gama-globulina.

COMENTARIOS

Do ponto de vista prático, o estudo eletroforético das proteínas do líquido permite distinguir dois grandes grupos de entidades neurológicas bem caracterizadas:

a) Moléstias tais como tumores raqueanos e encefálicos, meningites, processos vasculares encefálicos, polirradiculoneurites, em que as alterações são predominantemente devidas à passagem de proteínas do soro sanguíneo para o líquido, em consequência de perturbação da barreira hêmato-encefálica.

b) Moléstias tais como a neurolues parenquimatosa, a cisticercose encefálica, a esclerose múltipla e certas formas de encefalite, em que as alterações são devidas ao enriquecimento do líquido em gama-globulina, liberada em sua maior parte intratecalmente.

Assim, pois, a eletroforese das proteínas do líquido não faz o diagnóstico da moléstia, mas indica o tipo de alteração protéica peculiar a determinado processo fisiopatológico em atividade. Estes fatos explicam algumas disparidades encontradas na literatura, quando as pesquisas foram feitas visando determinada moléstia. Além disso, se grande número de alterações das proteínas do líquido pode ser explicado pelo simples aumento da permeabilidade da barreira hêmato-encefálica, é evidente que as modificações das frações protéicas do sangue devam repercutir sobre as frações protéicas do líquido. É, portanto, necessário que se proceda sempre, simultaneamente ao líquido, ao estudo das proteínas do soro sanguíneo.

Do ponto de vista do diagnóstico diferencial, a prova eletroforética é de grande valor quando se tenha dúvida diagnóstica entre duas entidades neurológicas pertencentes a grupos diferentes. Ela também pode informar durante o curso de uma moléstia qual o mecanismo predominante, se há alteração da permeabilidade vascular ou do parênquima encefálico. Assim, para exemplificar, podemos afirmar que a eletroforese pode contribuir para o diagnóstico diferencial entre meningite tuberculosa e cisticercose encefá-

lica; entre uma meningite infecciosa com presença de células eosinófilas no líquor e a cisticercose encefálica; no caso de uma meningoencefalite a eletroforese pode contribuir informando a participação do parênquima encefálico no processo.

A análise do nosso material não demonstrou o aumento preferencial das alfa-globulinas nos processos inflamatórios agudos, tal como ocorre em relação ao soro sanguíneo.

Com referência ao título da reação de Wassermann e à concentração de gama-globulina, verificamos que há uma relação grosseira logarítmica linear, enquanto que em relação à reação de fixação de complemento para cisticercos não observamos correlação, pois a dispersão é muito grande.

Os resultados dos exames eletroforéticos vieram afirmar o grande valor das provas empíricas, introduzidas no passado na rotina dos exames do líquor por notáveis investigadores, tais como as chamadas reações das globulinas e as reações coloidais. É, entretanto, sem dúvida, a separação eletroforética das frações protéicas o recurso mais eficaz para a avaliação das alterações qualitativas das proteínas do líquor e que pode ser executada pelos pequenos laboratórios clínicos, e esta prova constitui mais um elemento valioso no conjunto dos exames que se fazem no líquido cefalorraqueano.

RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho é baseado no estudo dos perfis eletroforéticos das proteínas do líquido cefalorraqueano de 300 pacientes normais ou portadores de diversas entidades neurológicas. Analisando este material, os autores verificaram que a gama-globulina é a fração protéica cuja variação tem grande importância na prática neurológica para o diagnóstico diferencial. A principal conclusão a que chegaram indica que há dois diferentes mecanismos que atuam na alteração do perfil eletroforético das proteínas do líquor: a) alteração da permeabilidade da barreira hêmato-encefálica; b) liberação intratecal de gama-globulina. Portanto, o método eletroforético não permite o diagnóstico de determinada entidade neurológica, mas indica o mecanismo fisiopatológico em atividade.

SUMMARY

Paper-strip electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins and their practical value in Neurology.

This paper is based on the study of the protein profile of the cerebrospinal fluid of 300 neurological patients. This material was analysed in the same way as that one performed by Matiar and Schmidt (1958) and it was found almost the same results. These findings suggested the great value of the cerebrospinal fluid gamma-globulin concentration in the neurological differential diagnosis.

In order to enlarge these studies in our own material, it was tried to find some correlation between albumin and globulin fractions expressed in mg/100 ml. The logarithm of albumin concentration was plotted graphically against the logarithm of globulin concentration; each disease was noted down as different symbols. It was verified linear bilogarithmic correlation between albumin and each globulin fraction. Graphs with albumin/alpha-globulin or with albumin/beta-globulin showed absence of characteristic disease behaviour. On the contrary, the graph with albumin/gamma-globulin showed a typical behaviour for neurolues and brain cysticercosis data.

Assuming that the cases of spinal block may very well indicate the condition where the changes of the spinal fluid proteins were due to a modification of permeability of the blood-brain barrier, it was calculated the regression equation for the various gamma-globulin concentrations of these cases. It was found that most of the cases of brain tumors, intracranial hemorrhages, meningitis and polyradiculoneuritis were in perfect agreement with the cases of spinal block, suggesting that in these cases the protein changes were due to a modification of permeability of the blood-brain barrier. On the contrary, the great majority of the cases of neurolues and brain cysticercosis did not follow this pattern, suggesting that there was an increase of the spinal fluid gamma-globulin which must be originated intrathecally.

These findings point out to two different mechanisms in the changes of the protein profile of cerebrospinal fluid and, therefore, electrophoresis did not allow the diagnosis of a determined neurological disorder, but it shows the particular physiopathological mechanism involved.

REFERENCIAS

1. BÜCHER, T.; MATZELT, D.; PETTE, D. — Papier-Elektrophorese von Liquor cerebrospinalis. *Klin. Wochenschr.*, 30:325, 1952.
2. GRIES, G.; ALY, F. W.; OLDERHAUSEN, H. F. — Zur Methodik der Papierelektrophorese des Liquor cerebrospinalis. *Klin. Wochenschr.*, 31:644, 1953.
3. KNAPP, A. — Über die Papierelektrophorese des Liquor cerebrospinalis. *Arch. f. Klin. u. exper. Dermat.*, 201:446, 1955.
4. MATIAR, H.; SCHMIDT, C. — Der Erhöhung der Gammaglobuline im Liquor. *Deutsche Ztschr. f. Nervenhe.*, 178:300, 1958.
5. MIES, H. J. — Einengung von Liquor cerebrospinalis als Vorbereitung zur Papierelektrophorese. Ein einfaches und schonendes Verfahren. *Klin. Wochenschr.*, 31:159, 1953.
6. MUMENTHALER, M.; MÄRKI, H. — Über die Liquorelektrophorese. Methodik und klinische Anwendung. *Klin. Wochenschr.*, 35:1, 1957.
7. SCHÖNENBERG, H. — Der Liquor cerebrospinalis im Kindesalter. Georg Thieme, Stuttgart, 1960.
8. ROSSI, G.; SCHNEIDER, G. — Elektrophoretische Untersuchung von pathologischem Liquor cerebrospinalis. *Klin. Wochenschr.*, 31:969, 1953.
9. SPINA-FRANÇA, A. — Eletroforese em papel das proteínas do líquido cefalorraqueano. Valores normais. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 18: 19, 1960.
10. WEISE, H. J. — Das Liquoreiweissbild bei dys und paraproteinämie. *Klin. Wochenschr.*, 38:1040, 1960.