

PROTEINAS DO LIQUIDO CEFALORRAQUEANO

II. VALORES NORMAIS DAS FRAÇÕES PROTEICAS OBTIDAS POR ELETROFORESE (VARIÇÕES LIGADAS A COR, SEXO E IDADE)

LUCIA M. SINGER VERMES *

O estudo das frações protéicas do LCR normal tem sido realizado desde 1939 por numerosos pesquisadores e mediante diversas técnicas de eletromigração: eletroforese livre¹¹, sobre papel^{2,12,15,28,36}, acetato de celulose^{3,4,8,10,16,20,22,34}, géis de ágar¹⁷, agarose³⁵, amido²³ e poliacrilamida⁶.

Os valores normais do proteinograma do LCR, encontrados pelos diferentes pesquisadores são discrepantes entre si em função da pluralidade de métodos empregados na dosagem de proteínas totais, na concentração do material, eletroforese, coloração e avaliação quantitativa^{1,21,24,36}, assim como na escolha de amostras normais^{1,16,21,28}.

Outro fator que deve ser considerado quando são estabelecidos os valores normais de proteínas do LCR é a via de colheita das amostras: o LCR colhido por punção lombar (LCR-L) apresenta, em média, concentração protéica total mais elevada que o LCR obtido por punção da cisterna magna (LCR-SO) e este tem conteúdo protéico mais elevado que aquele colhido por punção ventricular^{12,29,32,34}. As proporções guardadas entre as várias frações protéicas do LCR obtido em diferentes níveis de punção não são as mesmas. Segundo alguns autores, o LCR-V apresenta valores relativos de pré-albumina mais altos que o LCR-SO e este contém percentagens maiores, desta fração que o LCR-L^{30,34}. Hill e col. no entanto, observaram que o LCR-L apresenta valores relativos de pré-albumina significativamente menores que o LCR colhido por outras vias, somente quando a proteinorraquia total é alta, embora ainda dentro da faixa de normalidade¹². Werner também verificou valores percentuais altos de pré-albumina quando o LCR-L apresenta baixo teor protéico³⁵. Em relação às outras frações protéicas foi observado que quando, nas mesmas condições de normalidade, a proteinorraquia total é alta, principalmente albumina mas também globulinas γ acham-se percentualmente elevadas enquanto globulinas α e β encontram-se diminuídas^{12,28,35}.

Resumo da tese de doutoramento "Líquido Cefalorraqueano Normal: métodos de concentração, proteinograma e imunoglobulinas", defendida no Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
* Professora Assistente do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Outro fator que influencia tanto a proteinorraquia total como as proporções entre as várias frações protéicas do LCR é a idade^{14,26,27,36}. Por isto, alguns autores estudaram o proteinograma normal em diferentes faixas etárias. Widell estabeleceu os valores normais das frações protéicas do LCR de 98 crianças, cujas idades variavam entre 0 e 13 anos dividindo sua amostra em 11 partes de acordo com faixas etárias³⁶. Siemes e col. dividiram em 4 faixas etárias um grupo de 57 crianças cujas amostras de LCR foram analisadas por eletroforese sobre acetato de celulose; seus resultados demonstraram que recém-nascidos apresentam baixos teores de pré-albumina, globulinas β e τ e que a pré-albumina aumenta moderadamente entre 3 meses e 2 anos de idade; observaram também que os níveis de globulinas γ são baixos em crianças com 2 semanas a 3 meses, aumentando a partir desta idade²⁷. Krause & Wisser estudaram o proteinograma normal do LCR-L de 109 crianças com 0 a 13 anos de idade, dividindo estas amostras em 7 grupos segundo faixas etárias e verificaram diferenças significantes apenas em relação às globulinas γ de bebês e lactentes com 0 a 6 meses¹⁴.

Em adultos também foram observadas diferenças no proteinograma, de acordo com a idade. Widell observou que em adultos jovens (17 a 30 anos) a pré-albumina apresenta-se em níveis maiores que em pessoas entre 31 e 59 anos, enquanto que globulinas α_1 acham-se diminuídas³⁶. Sherwin & Moore observaram que a albumina decresce e globulinas α aumentam em pessoas idosas²⁵.

Mertin e col., por sua vez, observaram que em adultos existe correlação positiva entre idade e níveis de globulinas β ²⁰. Estes autores encontraram ainda níveis de globulinas γ mais altos em mulheres que em homens. Já Sherwin & Moore observaram existir níveis mais elevados de globulinas α em pessoas do sexo feminino²⁵. Jensen afirmou não existirem diferenças significantes nas taxas percentuais médias de pré-albumina e globulinas γ entre homens e mulheres¹³.

Alguns autores ainda observaram diferentes proporções no proteinograma normal, segundo os grupos étnicos estudados. Assim, estudando o LCR normal de negros de Oeste Africano, foi observado aumento de globulinas γ ^{5,78,9,22} e diminuição de albumina^{5,9} em relação ao LCR normal de brancos. Bronsky e col. observaram que fato semelhante ocorre em negros norte-americanos². Chuke, no entanto, observou que não existem diferenças no proteinograma do LCR-L normal, entre brancos e negros⁴.

Em decorrência destes fatos e levando em consideração que em nosso meio a colheita de LCR por punção da cisterna magna é utilizada mais frequentemente que aquela efetuada por punção lombar, propusemo-nos no presente trabalho, estabelecer os valores fisiológicos das frações protéicas obtidas por eletroforese do LCR-SO, verificando ainda se existem diferenças ligadas à cor, sexo e idade no proteinograma.

MATERIAL E METODOS

A eletroforese do LCR foi efetuada em 213 amostras de LCR normal, colhidas por punção da cisterna magna. Estas amostras provieram de pacientes de ambulatório que apresentavam exame neurológico normal e as amostras de LCR eram normais quanto à pressão, aspecto e cor, citologia, conteúdo de glicose e cloretos; em todas as amostras eram negativas as reações de Pandy, Nonne e Takata-Ara e imunológicas para lues e cisticercose.

Das 213 amostras de LCR, 30 provieram de crianças com idades variáveis entre 5 meses e 11 anos, sendo 15 meninos e 15 meninas; 183 de pessoas com 12 a 79 anos sendo 110 do sexo masculino (86 brancas, 24 pretas ou pardas) e 73 do feminino (61 brancas, 12 pretas ou pardas).

Após a colheita, o material foi sempre centrifugado, para eliminação de possíveis células. As proteínas totais foram quantificadas pelo método de Lowry e col. 18 apresentando-se todas elas dentro dos limites normais para nossa população 32.

As amostras de LCR, após dosagem de proteínas totais, foram concentradas pelo método de diálise contra solução a 50% de goma-arábica em tampão veronal-acetato, por ter sido este o procedimento de escolha entre aqueles estudados em trabalho anterior 33. Em seguida foram submetidas à eletroforese de proteínas. A eletroforese foi realizada sobre membranas de acetato de celulose mediante os mesmos equipamentos e procedimentos mencionados anteriormente 33.

Foram calculados as médias e desvios-padrão das taxas de proteínas totais e das frações eletroforéticamente separadas, tanto em percentagem do total protéico como em mg/100 ml, dos seguintes grupos: crianças do sexo masculino; crianças do sexo feminino; maiores de 12 anos, brancos do sexo masculino (homens brancos); maiores de 12 anos, pretos ou pardos do sexo masculino (homens pretos ou pardos); maiores de 12 anos, brancos do sexo feminino (mulheres brancas); maiores de 12 anos, pretos ou pardos do sexo feminino (mulheres pretas ou pardas).

Para verificar possíveis diferenças quanto aos níveis de proteínas totais e das 7 frações protéicas (em percentagem e em mg/100 ml), entre crianças do sexo feminino e masculino, entre mulheres pretas ou pardas e brancas e entre homens pretos ou pardos e brancos, foi utilizada a distribuição da frequência «t» de Student. Quando não ocorriam diferenças significantes entre cada um dos 2 grupos de pessoas analisadas, estes eram reunidos para cálculos de médias, desvios-padrão e intervalos de confiança. Análises de variância foram aplicadas para comparar 3 ou mais grupos de pessoas entre si, quanto às médias da proteinorraquia total e das frações eletroforéticas. Nos casos em que estas análises demonstraram diferenças significantes, foi aplicado o teste de Scheffé para verificar quais grupos de pessoas diferiam entre si quanto às quantificações abordadas. Variações nos níveis de proteínas totais e das frações protéicas com a idade foram estudadas utilizando o coeficiente de correlação de Pearson. A distribuição «t» de Student (quando o tamanho da amostra era igual ou menor que 30) ou a distribuição normal foi aplicada na verificação de significância destas correlações.

Quando necessário foi aplicada a aproximação Z de Fisher para verificação de diferenças entre os coeficientes de correlação. Todos os dados eletroforéticos em porcentagem foram previamente transformados em arco-seno $\sqrt{\text{porcentagem}}$ de Snedecor para a realização das análises estatísticas: «t» de Student, análise de variância, teste de Scheffé e coeficiente de correlação de Pearson. Para todas as análises realizadas foi estabelecido um nível de rejeição de 5%.

RESULTADOS

As médias e desvios-padrão dos valores obtidos nas dosagens de proteínas totais e frações protéicas obtidas por eletroforese dos 6 grupos de pessoas estudados acham-se na tabela 1.

Os testes estatísticos realizados para verificação de diferenças no proteinograma entre crianças do sexo masculino e feminino, entre homens pretos ou pardos e brancos e entre mulheres pretas ou pardas e brancas, não foram significantes.

Pelo fato de não terem sido encontradas variações significantes no proteinograma do LCR ligadas à cor (tanto em homens como em mulheres) e quanto ao sexo em crianças, foram submetidos à análise de variância os resultados obtidos nos 3 grupos: crianças, mulheres e homens. Na tabela 2, além das médias e desvios-padrão calculados para estes 3 grupos, acham-se os resultados para verificação de diferenças entre estes grupos de pessoas.

Foram observadas diferenças significantes (entre homens, mulheres e crianças) na proteinorraquina total média; nos valores relativos médios de: pré-albumina, globulinas α_1 e β ; nos valores absolutos médios de: albumina, globulinas α_2 , β , τ e γ . Estes dados foram então submetidos a testes de contrastes de Scheffé, cujos resultados também se encontram na tabela 2.

Tendo em vista as diferenças encontradas entre os 3 grupos de pessoas analisados, o estudo das variações, no proteinograma, com a idade, foi realizado separadamente para homens, mulheres e crianças.

Os coeficientes de correlação obtidos, assim como as verificações de significância destas correlações acham-se na tabela 3; pela análise desta tabela observa-se que em crianças não existem correlações significantes, no proteinograma, com a idade; em homens e em mulheres há correlação positiva, estatisticamente significativa, entre idade e os valores absolutos das globulinas α_2 , β , τ e γ , assim como de proteínas totais. Além disto, foi ainda observada nos homens correlação positiva significativa entre idade e globulinas α_2 (em porcentagem), τ (em porcentagem), pré-albumina e albumina (estas últimas em valores absolutos), e nas mulheres correlação positiva significativa entre idade e globulinas α_1 (em mg/100 ml). Na tabela 3 também se encontram os coeficientes de correlação de Pearson, e as verificações de significância destas correlações obtidas para o grupo de adultos, onde se pode observar a existência de correlações positivas significantes entre idade e níveis de proteínas totais e de todas as frações protéicas em valores absolutos.

Os valores relativos de globulinas α_2 e τ de adultos também apresentam correlação positiva significativa com a idade.

PROTEINOGRAMA	CRIANÇAS DO SEXO MASC. (N = 15)		CRIANÇAS DO SEXO FEM. (N = 15)		MULHERES BRANCAS (N = 61)		MULHERES PRETAS OU PARDAS (N = 12)		HOMENS PRETOS OU PARDOS (N = 24)		HOMENS BRANCOS (N = 86)		
	\bar{X}	D.P.	\bar{X}	D.P.	\bar{X}	D.P.	\bar{X}	D.P.	\bar{X}	D.P.	\bar{X}	D.P.	
PROTEÍNAS-TOTAIS (mg/100 ml)	21,73	3,66	20,09	5,27	23,45	6,52	25,48	6,39	30,12	7,85	29,62	8,16	
VALORES RELATIVOS (%)	PRÉ-ALBUMINA	1,98	7,83	2,35	2,49	6,60	2,29	2,29	5,75	1,62	5,77	1,97	
	ALBUMINA	59,90	6,27	60,07	4,75	59,25	6,26	61,02	63,04	6,34	62,74	6,53	
	α ₁	4,43	1,65	4,17	2,09	3,67	1,47	3,91	3,33	1,41	3,50	1,23	
	α ₂	4,90	1,70	5,03	1,25	5,21	1,59	5,16	4,71	1,24	4,75	1,48	
	β	11,27	2,59	10,40	2,80	10,33	2,29	10,01	1,96	9,21	1,90	9,39	2,35
	τ	5,23	1,43	5,13	1,59	6,08	1,64	5,89	1,75	6,06	1,81	6,00	1,94
γ	7,40	2,05	7,37	2,57	7,75	1,83	7,21	1,78	7,90	2,27	7,84	2,08	
VALORES ABSOLUTOS (mg/100 ml)	PRÉ-ALBUMINA	1,47	0,42	1,50	0,37	1,70	0,42	1,57	1,66	0,42	1,60	0,40	
	ALBUMINA	13,09	3,03	12,15	3,64	14,08	5,01	15,71	19,13	5,87	18,76	6,16	
	α ₁	0,98	0,41	0,81	0,43	0,87	0,41	1,00	0,97	0,44	1,04	0,47	
	α ₂	1,06	0,38	1,04	0,46	1,24	0,53	1,33	1,40	0,49	1,41	0,63	
	β	2,40	0,49	2,01	0,55	2,40	0,75	2,53	2,75	0,81	2,76	0,95	
	τ	1,13	0,32	1,02	0,34	1,38	0,37	1,49	1,82	0,69	1,75	0,71	
γ	1,60	0,49	1,56	0,84	1,78	0,48	1,84	2,39	0,94	2,30	0,85		

Tabela 1 - Médias (\bar{X}) e desvios-padrão (D.P.), obtidos através da quantificação de proteínas totais e frações proteicas do ICR-SO normal de crianças (sexo masculino e feminino), mulheres pretas ou pardas, mulheres brancas, homens pretos ou pardos e homens brancos.

Proteinograma	Crianças (N=30)		Mulheres (N=73)		Homens (N=110)		F de Snedecor	Teste de Scheffé			
	\bar{X}	D.P.	\bar{X}	D.P.	\bar{X}	D.P.		Crianças X Mulheres	Crianças X Homens	Mulheres X Homens	
Proteínas totais (mg/100ml)	20,91	4,53	25,14	6,41	29,73	8,06	22,02*	2,74*	6,08*	4,33*	
VALORES RELATIVOS (%)											
Pré-albumina	7,35	2,19	6,78	2,34	5,77	1,89	9,30*	1,29	3,69*	3,20*	
Albumina	59,98	5,47	60,73	6,38	62,81	6,46	3,71*	0,66	2,24	2,12	
α_1	4,30	1,86	3,87	1,26	3,46	1,26	4,68*	1,19	2,77*	2,07	
α_2	4,97	1,47	5,17	1,52	4,74	1,43	2,02	-	-	-	
β	10,83	2,69	10,06	2,01	9,35	2,25	5,34*	1,39	3,00*	2,11	
τ	5,18	1,48	5,92	1,72	6,01	1,91	2,43	-	-	-	
γ	7,38	2,28	7,30	1,79	7,85	2,12	1,29	-	-	-	
VALORES ABSOLUTOS (mg/100 ml)											
Pré-albumina	1,49	0,39	1,60	0,37	1,61	0,40	1,21	-	-	-	
Albumina	12,62	3,32	15,45	4,71	18,84	6,07	20,31*	2,38	5,91*	4,31*	
α_1	0,89	0,42	0,98	0,41	1,02	0,47	1,21	-	-	-	
α_2	1,05	0,42	1,32	0,55	1,41	0,63	4,69*	2,18	3,06*	1,05	
β	2,21	0,55	2,51	0,77	2,75	0,96	5,86*	1,60	3,14*	1,99	
τ	1,07	0,33	1,47	0,56	1,77	0,70	17,21*	2,91*	5,36*	3,13*	
γ	1,58	0,68	1,83	0,66	2,32	0,87	14,92*	1,48	4,59*	4,16*	

Tabela 2 - Médias (\bar{X}) e desvios-padrão (D.P.) obtidos através da quantificação de proteínas totais e frações proteicas do LCR-SO normal de crianças, mulheres e homens. Comparação entre estes três grupos de pessoas por análise de variância seguida pelo teste de Scheffé (quando F foi significativo). Valores críticos: F de Snedecor = 3,00; Fa (para o teste de Scheffé) = 2,45. Os valores estatisticamente significantes acham-se assinalados com asterisco.

Proteinograma	Crianças (N=30)		Mulheres (N=73)		Homens (N=110)		Adultos (N=183)		
	r	t	r	K	r	K	r	K	
Proteínas totais (mg/100 ml)	0,20	1,08	0,25	2,10*	0,39	4,07*	0,36	4,84*	
VALORES RELATIVOS	Pré-albumina	0,01	0,06	-0,04	0,32	-0,13	1,36	-0,13	1,73
	Albumina	0,11	0,56	-0,17	1,45	-0,02	0,21	-0,05	0,73
	α ₁	-0,14	0,75	0,21	1,76	-0,08	0,84	-0,002	0,03
	α ₂	-0,005	0,02	0,21	1,82	0,19	1,98*	0,18	2,43*
	β	-0,16	0,84	0,15	1,26	0,002	0,02	0,03	0,40
	τ	-0,06	0,33	0,12	1,00	0,19	1,98*	0,16	2,16*
γ	0,10	0,53	0,04	0,36	-0,08	0,81	-0,03	0,37	
VALORES ABSOLUTOS	Pré-albumina	0,11	0,60	0,23	1,95	0,25	2,60*	0,24	3,24*
	Albumina	0,21	1,13	0,15	1,24	0,32	3,34*	0,29	3,92*
	α ₁	0,06	0,30	0,29	2,47*	0,18	1,88	0,21	2,83*
	α ₂	0,08	0,41	0,32	2,69*	0,42	4,36*	0,39	5,32*
	β	-0,004	0,02	0,29	2,44*	0,30	3,15*	0,31	4,26*
	τ	0,05	0,35	0,25	2,11*	0,44	4,60*	0,39	5,32*
γ	0,21	1,16	0,23	1,97*	0,26	2,68*	0,26	3,47*	

Tabela 3 - Análise estatística: correlação entre idade e dados obtidos no proteinograma do LCR-SO normal de crianças, mulheres, homens e adultos, pelo coeficiente de correlação de Pearson (r) e verificação de significância deste coeficiente (t ou K). Valores críticos: t = 2,05; K = 1,96. Os valores estatisticamente significantes acham-se assinalados com asterisco.

Autor (es) (Ano)	Nº de casos	Proteínas totais	Pré-albumina	Albumina	G l o b u l i n a s				
					α_1	α_2	β	τ	γ
Siemes ²⁶ (1972)	21	21,4 ± 4,4	6,2 ± 1,3	65,3 ± 3,0	3,8 ± 0,6	4,5 ± 0,7	9,5 ± 1,7	4,0 ± 1,0	6,7 ± 0,7
Krause & Wisser ¹⁴ (1975)	93	20,9 ± 6,75	8,0 ± 2,3	59,0 ± 5,6	4,5 ± 2,0	7,0 ± 2,0	10,0 ± 2,0	4,0 ± 1,3	7,5 ± 2,5
Siemes & col. ²⁷ (1975) *	42	20,4 ± 5,2	6,7 ± 1,1	66,3 ± 3,1	3,4 ± 0,8	4,0 ± 0,7	9,9 ± 1,9	4,1 ± 0,8	6,6 ± 1,1
Presente trabalho	30	20,91 ± 4,53	7,35 ± 2,19	59,98 ± 5,47	4,30 ± 1,86	4,97 ± 1,47	10,83 ± 2,69	5,18 ± 1,48	7,38 ± 2,28

Tabela 4 - Médias e desvios-padrão (\bar{X} + D.P.) dos níveis de proteínas totais (mg/100 ml) e valores percentuais das frações proteicas do LCR normal de crianças, separadas por eletroforese sobre acetato de celulose. Resultados registrados por alguns autores e os da presente investigação. *Valores calculados a partir de dados dos autores.

Autor (es) (Ano)	Nº de casos	Pun- ção	Proteínas totais (mg/100 ml)	Pré-albumina	Albumina	G l o b u l i n a s				
						α_1	α_2	β	τ	γ
Glasner & Mühler ¹⁰ (1971)	21	L	40,0	5,31 ± 1,71	60,99±3,76	5,10±0,92	6,13±1,25	8,47±1,36	5,28±1,50	8,80±1,22
Mertin & col. ²⁰ (1971)	80* 60**	L L	37,0±9,1 33,6±8,75	4,9±1,10 5,5±1,60	63,7 ±4,25 61,6 ±5,55	3,4±1,15 3,9± 1,30	4,9±1,00 5,2±1,25	8,8±1,30 8,8±1,40	6,1±1,65 6,0±1,70	8,3±1,50 9,0±2,65
Caldas Filho & col. ³ (1977)	19	L	18,0	4,3±1,5	54,5 ±4,2	6,1±1,4	8,2±1,8	15,5 ± 1,9		11,3±0,8
Weisner & Bernhardt ^{3,4} (1978)	33	SO	31,6±5,8	7,2±1,4	56,2 ±6,0	5,2±1,4	5,5±1,1	15,7 ± 2,6		9,8±1,5
Livramento ¹⁶ (1978)	50	SO	20,5±4,12	5,8±1,29	56,04±3,58	4,10±1,44	6,73±1,65	9,69±2,05	5,97±1,44	11,64±1,88
Presente trabalho	110* 73**	SO SO	29,73±8,06 25,14±6,41	5,77±1,89 6,78±2,34	62,81±6,46 60,73±6,38	3,46±1,26 3,87±1,26	4,74±1,43 5,17±1,52	9,35±2,25 10,06±2,01	6,01±1,91 5,92±1,72	7,85±2,12 7,30±1,79

Tabela 5 - Médias e desvios-padrão (\bar{X} + D.P.) dos níveis de proteínas totais e dos valores percentuais das frações proteicas do LCR normal de adultos, separadas por eletroforese sobre acetato de celulose. Resultados registrados por alguns autores e os da presente investigação. Legenda: * homens, ** mulheres.

Visto que tanto a proteinorraquia total como várias frações protéicas são correlacionadas com a idade fez-se necessário verificar, pelo teste «t» de Student, se havia diferenças quanto às médias das idades entre os grupos: meninos $4,58 \pm 3,36$ anos) e meninas ($7,10 \pm 3,38$ anos); homens pretos ou pardos ($37,42 \pm 14,29$ anos) e brancos ($38,56 \pm 16,21$ anos); mulheres pretas ou pardas ($36,50 \pm 12,11$ anos) e brancas ($34,84 \pm 12,98$ anos); homens ($38,31 \pm 15,75$ anos) e mulheres ($35,11 \pm 12,78$ anos). De fato, como não ocorreram diferenças significantes entre os grupos acima assinalados, com referência ao fator idade, as comparações efetuadas para verificação de diferenças no proteinograma entre crianças do sexo masculino e feminino, e entre adultos quanto à cor e sexo, podem ser consideradas válidas.

COMENTARIOS

Para caracterizar os valores normais das frações protéicas do LCR-SO, assim como para verificar possíveis variações ligadas à cor, ao sexo e à idade, foi escolhido, para fazer eletroforese de proteínas, o método que utiliza membranas de acetato de celulose, visto já ter sido amplamente demonstrada sua superioridade em relação ao papel 19,31, ser relativamente pouco oneroso e de simples aplicação em laboratórios de rotina quando comparado com os métodos que utilizam gel de ágar, de agarose ou de poliacrilamida.

Amostras de LCR de recém-nascidos e bebês com menos de 5 meses de idade não foram estudadas no presente trabalho pelas suas peculiaridades em função principalmente da imaturidade funcional da barreira hemato-liquórica 27,36.

Para estudar as variações, no proteinograma do LCR, ligadas à cor, foram levados em consideração dois grupos: pretos ou pardos e brancos. Dado o pequeno número de amostras de LCR de crianças pretas ou pardas (2 do sexo masculino e 5 do feminino), o estudo das variações ligadas à cor foi realizado com LCR de adultos.

Foram comparados os níveis médios de proteínas totais e frações protéicas (em mg/100 ml e em percentagem do total protéico) de homens de cor preta ou parda e branca, separadamente daqueles de mulheres pretas ou pardas e brancas, para que não houvesse influência do fator sexo.

Discordando dos resultados obtidos pelos pesquisadores que compararam as taxas de frações protéicas do LCR de negros do oeste africano com as de europeus brancos 5,7,8,9,22, assim como dos valores obtidos por Bronsky e col. 2 em população negra norte-americana, que referem existir aumento nas taxas de globulinas γ em pessoas de cor preta, no presente trabalho as médias dos valores (percentuais e absolutos) obtidos no proteinograma de pretos ou pardos e brancos, tanto de homens como de mulheres, não apresentaram quaisquer diferenças significantes.

Deve-se notar que as condições nutricionais e imunobiológicas da população aqui estudada, provavelmente, são semelhantes, independentemente da cor, fato este que não ocorreu com as populações estudadas por alguns destes pesquisadores que compararam populações negras da África com brancas européias e/ou norte-americana 4,5,7,8,9,22 podendo então as diferenças ligadas à cor encontradas pela maioria destes investigadores, na realidade serem devidas a diferentes eco-sistemas em que vivem as populações por eles estudadas.

Poder-se-ia, por outro lado, levantar a hipótese de que esta ausência de variações, no proteinograma, ligadas à cor se deva à alta miscigenação racial existente em nosso meio, que dificulta a separação nítida dos grupos étnicos.

Dado que não foram demonstradas variações ligadas à cor, nos níveis de proteínas totais e frações protéicas do LCR, os estudos para averiguação de possíveis diferenças destes valores entre os sexos e em função da idade assim como o estabelecimento das taxas fisiológicas do proteinograma do LCR-SO, puderam ser realizadas, reunindo os diferentes grupos étnicos.

Concordando com os resultados obtidos por Krause & Wisser¹⁴ aqui também não foram encontradas quaisquer diferenças significantes nos níveis de proteínas totais nem das frações protéicas obtidas por eletroforese, ligadas ao sexo em crianças.

Comparando, então os valores obtidos no proteinograma do LCR de crianças, com os obtidos em homens e mulheres, observou-se que os valores absolutos médios da globulina τ e de proteínas totais de crianças, diferiram significantemente tanto daqueles encontrados em homens como em mulheres; as médias das taxas de albumina e de globulinas γ também são significantemente inferiores àquelas encontradas em homens. Daí a necessidade de estabelecer os valores fisiológicos do proteinograma de crianças em separado daqueles de adultos. Além disto, observou-se que as taxas absolutas médias das globulinas α_2 e β de crianças são significantemente inferiores àquelas de homens e, os níveis relativos de pré-albumina, globulinas α_1 e β mais altos em crianças que em homens. Estas diferenças significantes que ocorreram entre homens e crianças, porém não entre crianças e mulheres, devem-se ao fato de que estes valores médios obtidos por eletroforese do LCR de mulheres são intermediários entre aqueles de crianças e de homens; em decorrência disto, as diferenças entre as taxas médias de mulheres e crianças são menores que entre homens e crianças.

Outros autores também estabeleceram os valores fisiológicos do proteinograma do LCR de crianças por meio da eletroforese sobre acetato de celulose, usando coincidentemente equipamentos iguais àqueles aqui utilizados para fazer eletroforese e densitometria, embora valendo-se de amostras de LCR-L^{14,26,27}. Apesar da diferente via de colheita de LCR utilizada, os valores relativos aqui obtidos estão, em linhas gerais, de acordo com os obtidos por estes investigadores, principalmente com os de Krause & Wisser¹⁴, como se pode verificar pela análise da tabela 4.

Cumprir notar ainda que Krause & Wisser também observaram níveis altos de pré-albumina (em percentagem) e baixos de proteínas totais, em crianças, comparativamente aos de adultos¹⁴; Siemes e sua equipe registraram ainda valores inferiores aos de adultos nos níveis percentuais das frações τ e γ do LCR de crianças^{26,27}, fatos estes não observados no presente trabalho.

Siemes e col. não observaram diferenças significantes nas médias dos valores de proteínas totais e frações protéicas entre crianças de 3 meses a 2 anos e 2 a 14 anos²⁷; Krause & Wisser também não observaram diferenças significantes, no proteinograma do LCR, entre 6 grupos de crianças, divididos segundo faixas etárias, cujas idades variaram de 6 meses a 13 anos¹⁴.

No presente trabalho, realizado com amostras de LCR de crianças com 5 meses a 11 anos de idade, também não foram verificadas quaisquer correlações significantes entre idade e proteínas do LCR, totais ou separadas por eletroforese.

Os valores fisiológicos estabelecidos através dos cálculos dos intervalos de confiança (95,5%), para o proteinograma do LCR-SO de crianças são: proteínas totais de 11,85 a 29,97 mg/100 ml; pré-albumina de 0,71 a 2,27 mg/100 ml (3 a 12%); albumina de 5,98 a 19,26 mg/100 ml (49 a 71%); globulinas α_1 de 0,05 a 1,73 mg/100 ml (0,6 a 8%); globulinas α_2 de 0,21 a 1,89 mg/100 ml (2 a 8%); globulinas β de 1,11 a 3,31 mg/100 ml (5,5 a 16%); globulina τ de 0,41 a 1,73 mg/100 ml (2 a 8%); globulinas γ de 0,22 a 2,94 mg/100 ml (3 a 12%).

Em adultos, não foram encontradas diferenças significantes ligadas ao sexo, no tocante às taxas percentuais médias das frações protéicas obtidas por eletroforese, à exceção da pré-albumina que é significantemente mais elevada em mulheres que em homens. Estes achados discordam daqueles registrados por outros autores que se preocuparam em verificar variações ligadas ao sexo nos níveis percentuais das frações do LCR obtidos por eletroforese 13,20,25.

Por outro lado, o fato de mulheres apresentarem níveis de proteínas totais mais baixos e de pré-albumina (em percentagem) mais elevados, que os encontrados em homens, vem de certa forma corroborar os achados daqueles pesquisadores que encontraram taxas altas de pré-albumina quando os valores de proteínas totais são baixos 12,35.

Os valores absolutos de todas as frações protéicas obtidas por eletroforese do LCR de homens são superiores aos de mulheres, sendo tais diferenças significantes para albumina, globulinas τ e γ . Cumpre notar que estas são as 3 frações em que os níveis percentuais são mais elevados em homens que em mulheres, apesar de tal variação não ser significativa, gerando então diferença maior nos níveis absolutos médios destas proteínas, entre os sexos.

Em função das diferenças encontradas nos níveis de proteínas totais e frações protéicas do LCR de adultos, ligadas ao sexo, inicialmente a influência da idade nestes valores foi estudada separadamente em homens e mulheres.

Foram observadas correlações positivas, estatisticamente significantes, entre idade e taxas de proteínas totais, tanto de homens como de mulheres, confirmando os resultados obtidos em trabalho anterior 32.

Os valores relativos das frações protéicas obtidas por eletroforese não apresentam correlações significantes com a idade, à exceção das globulinas α_2 e τ que em homens tendem a ser mais elevadas com o avançar da idade.

Em valores absolutos, há correlação positiva, estatisticamente significativa, entre idade e taxas das globulinas α_2 , β , τ , γ , tanto de homens como de mulheres. Em homens, ainda foram observadas correlações significantes entre idade e as frações pré-albumina e albumina, e em mulheres foi significativa a correlação entre idade e globulinas α_1 .

Estas correlações significantes observadas em um sexo, mas não no outro, devem ser encaradas com cautela, tendo em vista que a eletroforese é método semi-quantitativo e que fornece resultados bastante variáveis, principalmente no

tocante às globulinas α_1 e α_2 ; além disso os valores obtidos, mediante cálculos para verificação da significância destes coeficientes, estão muito próximos ao valor crítico estabelecido.

Em face dos resultados obtidos no estudo da influência da idade no proteinograma do LCR dos dois sexos separadamente, foi verificado se as correlações obtidas para cada fração protéica com a idade, em homens e em mulheres, eram significativamente diferentes entre si: não foram encontradas quaisquer diferenças significantes entre os coeficientes de correlação obtidos para cada fração protéica de homens e de mulheres. Por isto foi possível calcular para toda a população de adultos, os coeficientes de correlação entre idade e as frações protéicas, em valores relativos e absolutos, assim como o coeficiente de correlação entre idade e proteinorraquia total. Observou-se, para toda a população de adultos, a existência de correlações positivas, estatisticamente significantes, entre idade e todas as frações protéicas em valores absolutos, indicando que a elevação da proteinorraquia total com a idade é devida a um aumento homogêneo de todas as frações protéicas.

Estes achados discordam daqueles registrados por Mertin e col. que observaram correlação positiva significativa entre idade e valores relativos de globulinas γ ²⁰. Infelizmente estes autores, assim como Widell ³⁶ e Sherwin & Moore ²⁵, que calcularam os valores obtidos no proteinograma do LCR normal em diferentes faixas etárias de adultos, somente estudaram a influência da idade sobre os valores relativos, não permitindo pois comparação com os resultados aqui obtidos, em mg/100 ml.

Na tabela 5 foram comparados os valores percentuais aqui obtidos com aqueles registrados por alguns pesquisadores que estudaram o proteinograma do LCR de adultos valendo-se da eletroforese sobre acetato de celulose e que tenham efetuado suas investigações seja em nosso meio ^{3,16}, ou utilizando equipamentos, para fazer eletroforese e sua leitura, semelhantes àqueles aqui usados ^{10,20}, ou ainda que tenham estudado o LCR-SO ^{16,34}.

Os valores absolutos aqui obtidos não podem ser comparados com os de outros pesquisadores, tendo em vista que dos poucos trabalhos que registram valores absolutos ^{8,16,22}, somente os de Livramento ¹⁶ referem-se ao LCR-SO. No entanto, este autor quantificou as proteínas totais do LCR por turbidimetria após precipitação das proteínas pelo ácido tricloracético e este método fornece resultados de proteínas totais inferiores àqueles obtidos pelo método colorimétrico utilizado no presente trabalho ³².

Pela análise da tabela 5, observa-se que, em linhas gerais, os resultados percentuais aqui obtidos são muito semelhantes àqueles registrados pelos autores que utilizaram equipamentos iguais aos usados na presente investigação ^{10,20}, indicando ser a aparelhagem utilizada para fazer eletroforese e sua leitura, fator determinante nos resultados obtidos. Os resultados obtidos em nosso meio por Livramento ¹⁶, que também trabalhou com amostras de LCR-SO, e por Caldas F^o e col. ³, diferem daqueles obtidos na presente investigação, principalmente no tocante às globulinas γ , possivelmente devido ao fato destes autores terem efetuado leitura da eletroforese, em fotocolorímetro após eluição de cada fração protéica.

Portanto é aconselhável, àqueles laboratórios que empregam técnicas de dosagem de proteínas totais e/ou fracionamento eletroforético diferentes daquelas aqui utilizadas, mesmo trabalhando em nosso meio e com amostras de LCR-SO, que estabeleçam suas próprias faixas de normalidade.

Os valores fisiológicos estabelecidos através dos cálculos dos intervalos de confiança (95,5%) para o proteinograma do LCR-SO de homens, nas condições apontadas são: proteínas totais de 13,61 a 45,85 mg/100 ml; pré-albumina de 0,81 a 2,41 mg/100 ml (2 a 9,5%); albumina de 6,70 a 30,98 mg/100 ml (50,0 a 75,5%); globulinas α_1 de 0,80 a 1,92 mg/100 ml (1 a 6%); globulinas α_2 de 0,15 a 2,67 mg/100 ml (2 a 7,5%); globulinas β de 0,83 a 4,67 mg/100 ml (5 a 14%); globulina τ de 0,31 a 3,17 mg/100 ml (2 a 10%); globulinas γ de 0,58 a 4,06 mg/100 ml (3,5 a 11%).

Estes valores, em mulheres são: proteínas totais de 12,32 a 37,96 mg/100 ml; pré-albumina de 0,86 a 2,34 mg/100 ml (2 a 11,5%); albumina de 6,03 a 24,87 mg/100 ml (48 a 73,5%); globulinas α_1 de 0,16 a 1,80 mg/100 ml (1,5 a 6,5%); globulinas α_2 de 0,22 a 2,42 mg/100 ml (2 a 8%); globulinas β de 0,97 a 4,05 mg/100 ml (6 a 14%); globulina T de 0,35 a 2,59 mg/100 ml (2,5 a 9,5%); globulinas γ de 0,51 a 3,15 mg/100 ml (3,5 a 11%).

Cumprir notar que embora estes sejam os limites normais de proteinograma do LCR-SO, indivíduos idosos têm maior probabilidade de apresentarem taxas de proteínas totais e frações protéicas, em valores absolutos, mais próximos dos limites superiores, enquanto jovens, com maior frequência apresentam estas taxas mais próximas dos limites inferiores das faixas de normalidade.

RESUMO

Mediante dosagens de proteínas totais e eletroforese sobre acetato de celulose de 213 amostras de LCR normal, obtidas por punção da cisterna magna, foram efetuados estudos para verificação de variações ligadas à cor, sexo e idade. Os resultados obtidos permitiram concluir que: 1. não existem diferenças ligadas à cor no proteinograma do LCR; 2. em crianças, os fatores sexo e idade não influem nos valores estudados; 3. as taxas de proteínas totais e frações protéicas do LCR normal de criança diferem das de homens e de mulheres; 4. em adultos ocorrem variações ligadas ao sexo no proteinograma do LCR; 5. em adultos, proteínas totais e todas frações protéicas, quando expressas em mg/100 ml, aumentam com o avançar da idade. Foram estabelecidas, para a metodologia usada, as taxas fisiológicas do proteinograma do LCR de crianças, homens e mulheres, separadamente.

SUMMARY

Cerebrospinal fluid proteins. II. Normal values for cellulose acetate electrophoresis — variations related to race, sex and age.

The total protein content and protein fractions, obtained by electrophoresis on cellulose acetate strips, of CSF collected from the cisterna magna of 213 patients (with no neurological diseases) were determined in order to verify

variations related to race, sex and age, as well as to establish the proteinogram normal limits. No differences between caucasians and coloured persons were observed with respect to CSF total protein and protein fractions. Children (5 months to 11 years old) do not present differences related to sex or age, on their proteinogram. Children's CSF total protein, relative values of pre-albumin, α_1 — and beta-globulins, absolute values of albumin, α_2 —, beta —, tau — and gamma-globulins, differ from those found in adults. Differences between males and females in the normal CSF proteinogram were found in adults. As a consequence of these findings, the CSF proteinogram normal limits for children, males and females were separately established. In adults, statistically significant positive correlation between age and the 7 protein fractions when expressed in mg/100 ml were observed, as well as between age and total protein. Comparison of the results obtained in this research with those found in some publications was carried out and is briefly discussed.

REFERENCES

1. BAUER, H. — Die Cerebrospinalflüssigkeit. *Internist (Berl.)* 2:85, 1961.
2. BRONSKY, D.; KAPLITZ, S. E., ADE, R. D. & DUBIN, A. — The spinal fluid proteins in cerebrovascular disease. *Amer. J. med. Sci.* 244:92, 1962.
3. CALDAS F^o, I.; CAMPOS, G. B. & PITTELLA, C. F. H. — Eletroforese em acetato de celulose das proteínas do líquido cefalorraqueano. *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)* 35:239, 1977.
4. CHUKE, P. O. — Electrophoresis of normal lumbar cerebrospinal fluid proteins in the African. *Afr. J. Med. med. Sci.* 5:19, 1976.
5. DOUTRIAUX, C., CLERC, M. & GIORDANO, C. — Utilization du Cellogel R. S. Triangulaire pour l'étude de la protéinorachie, dans la panencephalite sclerosante subaigue: resultats et perspectives. *Clin. chim. Acta* 59:9, 1975.
6. EVANS, J. H. & QUICK, D. T. — Polyacrylamide gel electrophoresis of spinal fluid proteins. *Clin. Chem.* 12:28, 1966.
7. GIORDANO, C.; CLERC, M.; DOUTRIAUX, C. & PIQUEMAL, M. — Les gamma — globulines du liquide céphalo-rachidien dans les affections neurologiques du Noir africain. *Nouv. Presse méd.* 6:3305, 1977.
8. GIORDANO, C.; CLERC, M.; DOUTRIAUX, C. & PIQUEMAL, M. — Gamma — globulins patterns in CSF of inflammatory neurological diseases in tropical Africa. *Europ. Neurol.* 17:160, 1978.
9. GIRARD, P. L.; DUMAS, M.; OUDART, J. L.; VIEILLARD, J. J. & COLLOMB, H. — Les protéines du liquide céphalo-rachidien. Etude électrophorétique chez le Noir africain. *Nouv. Presse. méd.* 2:2583, 1973.
10. GLASNER, H. & MÜHLER, E. — Zur klinischen Bedeutung der Normomastixkurve im Liquor cerebrospinalis. *Nervenarzt* 42:155, 1971.
11. HESSELVIK, L. — Electrophoretical study of normal and pathological body fluids. *Acta. med. scand.* 101:461, 1939.
12. HILL, N. C.; MCKENZIE, D. F.; MCGUCKIN, W. F.; GOLDSTEIN, N. P. & SVIEN, H. J. — Proteins, glycoproteins and lipoproteins in the serum and cerebrospinal fluid of healthy subjects. *Proc. Mayo Clin.* 33:686, 1958.
13. JENSEN, K. — Cerebrospinal fluid proteins in neurological diseases. *Acta. neurol. scand.* 58 (Suppl. 70), 1978.
14. KRAUSE, H. D. & WISSER, H. — Normalbereich des Gesamteiweisses un der Eiweissfraktionen des Liquor cerebrospinalis bei Kindern. *Z. Klin. Chem.* 13:137, 1975.
15. LEMMEN, L. J.; NEWMAN, N. A.; De JONG, R. N. — Study of cerebrospinal fluid proteins with paper electrophoresis. Part. I. A review of literature. *Univ. Mich. med. Bull.* 23:3, 1957.

16. LIVRAMENTO, J. A. — Imunoglobulinas do líquido cefalorraqueano normal. São Paulo, 1978 (Dissert. Mestr. — Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo).
17. LOWENTHAL, A.; van SANDE, M. & KARCHER, D. — The differential diagnosis by fractionating electrophoretically the CSF γ — globulins. *J. Neurochem.* 6:51, 1960.
18. LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L. & RANDALL, R. J. — Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* 193:265, 1951.
19. MAIER, K. H. & VOGGEL, K. — Zur Methodik der Anreicherung und Elektrophorese von Liquor cerebrospinalis. *Klin. Wschr.* 41:286, 1963.
20. von MERTIN, J.; WISSER, H. & DOERR, P. — Untersuchung über den Normalbereich des Gesamteiweisses und der Eiweissfraktionen des Liquor cerebrospinalis nach elektrophoretischer Trennung auf Celluloseacetatfolie. *Z. klin. Chem.* 9:337, 1971.
21. MUMENTHALER, M. & MÄRKI, H. — Über die Liquorelektrophorese. Methodik und klinische Anwendung. *Klin. Wschr.* 35:1, 1957.
22. OUDART, J. L.; DUFRESNE, Y.; GIRARD, P. L. & DUMAS, M. — Electrophorèse des protéines du liquide céphalo-rachidien chez le Noir de l'Ouest africain. Son intérêt dans les parasitoses cérébrales. *Med. Afr. Noire* 23:25, 1976.
23. PERT, J. H. & KUTT, H. — Zone electrophoresis of cerebrospinal fluid proteins in starch gel. *Proc. soc. exp. Biol. (N.Y.)* 99:181, 1958.
24. von SCHEDIFKA, R.; KLENZ, G. & HELWIN, H. — Trägermaterialbedingte Unterschiede in der Liquorelektrophorese. *Acta histochem. (Jena)* 34:148, 1969.
25. SHERWIN, R. M. & MOORE, G. H. — Microzone electrophoresis of unconcentrated cerebrospinal fluid using cellulose acetate strips and nigrosin dye. *Amer. J. clin. Path.* 55:705, 1971.
26. SIEMES, H. — Die Proteinfractionierung des Liquor cerebrospinalis normaler Kinder mit der Celluloseacetatfolien — Elektrophorese. *Mtschr. Kinderheilk.* 120:262, 1972.
27. SIEMES, H.; SIEGERT, M. & RATING, D. — Das Liquorproteinprofil normaler Kinder und seine Abhängigkeit von Lebensalter. Untersuchungen mittels CAF — und Agarosegel — Elektrophorese. *Neuropädiatr.* 6:383, 1975.
28. SPINA-FRANÇA, A. — Eletroforese em papel das proteínas do líquido cefalorraquidiano. IV. Valores normais. *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)* 18:19, 1960.
29. SPINA-FRANÇA, A. & AMAR, I. — Valores normais da concentração do líquido cefalorraquidiano: variações ligadas ao local de colheita da amostra. *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)* 19:220, 1961.
30. STEGER, J. — Elektrophoretische Untersuchungen des Liquors. *Dtsche. Zeit. Nervenheilk.* 171:1, 1953.
31. VAZ, C.A.C.; FERRI, R. G.; GEISHOVEL, N. & CAMPOS, A.N.P. — Eletroforese sobre acetato de celulose (CAF). Reprodutibilidade e valores normais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz (São Paulo)* 31:71, 1971.
32. VERMES, L. M. S. — Proteínas totais do líquido cefalorraqueano: métodos de determinação e níveis normais (variações ligadas ao sexo, idade e local de punção). São Paulo, 1975 (Dissert. Mestr. — Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo).
33. VERMES, L. M. S. — Proteínas do líquido cefalorraqueano I. Estudo comparativo entre métodos de concentração. *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)*, 1:1, 1983.
34. WISNER, B. & BERNHARDT, W. — Protein fractions of lumbar, cisternal and ventricular cerebrospinal fluid. *J. neurol. Sci.* 37:205, 1978.
35. WERNER, M. — A combined procedure for protein estimation and electrophoresis of cerebrospinal fluid. *J. Lab. clin. Med.* 74:166, 1969.
36. WIDELL, S. — On the cerebrospinal fluid in normal children and in patients with acute abacterial meningo-encephalitis. *Acta paediat. (Uppsala)*, 47 (Suppl. 115):5, 1958.