

## PROTEINAS DO LIQUIDO CEFALORRAQUEANO

### III. VALORES NORMAIS DAS IMUNEGLOBULINAS G, A e M (VARIAÇÕES LIGADAS A COR, SEXO E IDADE)

LUCIA M. SINGER VERMES \*

A importância do conhecimento das taxas fisiológicas das imunoglobulinas do líquido cefalorraqueano (LCR) para a interpretação diagnóstica de várias afecções do sistema nervoso central, conduziu vários pesquisadores ao estudo dos níveis normais de imunoglobulinas no LCR.

Desde 1948, quando Kabat e col.<sup>26</sup> estabeleceram pela primeira vez os valores normais da imunoglobulina G (IgG) no LCR lombar (LCR-L) de 10 estudantes sadios, como sendo de em média 2,7 mg/100 ml e desvio-padrão de 0,65 mg/100 ml ( $2,7 \pm 0,65$  mg/100 ml), por precipitação imunoquímica em meio líquido, outros autores<sup>20,54,68,69,70,71</sup> utilizando o mesmo método, quantificaram IgG no LCR-L normal de adultos obtendo resultados variáveis, desde  $1,50 \pm 0,46$  mg/100 ml<sup>20</sup> até  $3,6 \pm 0,93$  mg/100 ml<sup>68,69</sup>. Os resultados obtidos por alguns daqueles que se valeram da precipitação imunoquímica em meio líquido, para o estabelecimento de valores normais de imunoglobulinas, acham-se resumidos na tabela 1. Este método no entanto caiu em desuso para laboratórios de rotina por consumir grandes volumes de LCR e ser trabalhoso.

Vários outros procedimentos foram então desenvolvidos e vêm sendo aplicados no estudo das imunoglobulinas do LCR: difusão unidimensional simples<sup>52</sup>, dupla difusão<sup>11,59</sup>, inibição da hemaglutinação<sup>60</sup>, radioimunensaio<sup>34,35</sup>, imunoprecipitação automática<sup>28</sup>, imunofluorimetria<sup>43</sup>, imunodifusão radial<sup>14,42</sup>, eletroimunensaio<sup>33</sup>. Estes dois últimos métodos vêm sendo adotados pela maioria dos pesquisadores.

Hartley e col. utilizando pela primeira vez eletroimunensaio (EIE), quantificaram IgG e imunoglobulina A (IgA) no LCR-L normal e observaram que embora IgG possa ser dosada em material não concentrado, IgA só é mensurável após concentração (de 10 vezes) do LCR. Estes autores obtiveram como valores médios para IgG e IgA, respectivamente, 2,3 e 0,17 mg/100 ml e não conseguiram dosar IgM, mesmo no material concentrado<sup>23</sup>. Vários pesquisadores passaram então a aplicar o EIE na quantificação das imunoglobulinas do LCR-L normal de

---

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.

adultos 1,4,5,6,16,17,18,25,45,51,56,57,58,64,71: os valores médios de IgG, assim obtidos, oscilaram entre os calculados por Takase & Yoshida<sup>64</sup> ( $1,44 \pm 0,53$  mg/100 ml) e os de Besset e col.<sup>4</sup> ( $5,39 \pm 2,69$  mg/100 ml); a menor taxa média de IgA foi encontrada por Schuller<sup>57</sup> (0,15 mg/100 ml) e a maior por Takase & Yoshida<sup>64</sup> (0,2 mg/100 ml). A imunoglobulina M (IgM) somente foi determinada por Schliep e col.<sup>56</sup> que obtiveram níveis médios de 0,06 mg/100 ml. Na tabela 2 acha-se um resumo dos resultados obtidos por alguns autores que quantificaram as imunoglobulinas do LCR-L normal em adultos, por EIE.

A imunodifusão radial (IDR) foi pela primeira vez aplicada ao LCR-L normal de adultos por Gottesleben & Bauer (1967) que quantificaram IgG e IgA em 48 amostras, obtendo em média, respectivamente,  $1,76 \pm 0,41$  e  $0,23 \pm 0,19$  mg/100 ml. Estes autores, mesmo trabalhando com material concentrado, não conseguiram detectar IgM<sup>21</sup>. Outros pesquisadores passaram então a aplicar a IDR para estabelecer os níveis fisiológicos de IgG e IgA no LCR de adultos 1,3,8,9,10,13,15,19,31,32,37,38,39,40,46,47,53,62,66,67,74,75,76,77. Nenhum deles conseguiu quantificar IgM no LCR normal. Os valores médios de IgG do LCR-L obtidos por IDR variaram entre os de Lamoureux e col.<sup>31</sup> ( $1,39 \pm 0,67$  mg/100 ml) e os de Fiocca<sup>15</sup> ( $3,61 \pm 1,03$  mg/100 ml). Os níveis médios de IgA oscilaram entre os obtidos por Ahonen e col.<sup>1</sup> ( $0,15 \pm 0,13$  mg/100 ml) e os de Smith e col.<sup>62</sup> ( $0,43 \pm 0,55$  mg/100 ml). Os resultados obtidos por alguns dos investigadores que utilizaram a IDR, no estabelecimento de níveis normais de imunoglobulinas do LCR, acham-se resumidos na tabela 3.

Embora as taxas normais de IgG e IgA tenham sido estabelecidas por vários pesquisadores, seja por precipitação imunoquímica em meio líquido, EIE ou IDR, a IgM, devido à pequena quantidade existente no LCR normal, somente foi quantificada por Schliep e col. (que usaram EIE)<sup>56</sup> e por meio de radioimunensaio por Mingioli e col.<sup>45</sup> e Nerenberg e col.<sup>49,50</sup>. Estes dados obtidos por radioimunensaio acham-se também resumidos na tabela 1, onde estão agrupados os resultados fornecidos em algumas das publicações nas quais as taxas normais de imunoglobulinas do LCR foram quantificadas por metodologias variadas, porém de uso menos difundido em laboratórios de rotina<sup>12,24,30,34,45,47,55</sup> (além daqueles, já mencionados, obtidos por precipitação imunoquímica em meio líquido).

As imunoglobulinas D e E somente puderam ser quantificadas mediante radioimunensaio dadas suas baixíssimas concentrações no LCR normal<sup>49</sup>.

A maior parte dos trabalhos sobre imunoglobulinas do LCR foi realizada com amostras de LCR-L. As imunoglobulinas do LCR obtido por outras vias de colheita foram estudadas por poucos investigadores: Weisner<sup>74</sup> observou que o LCR ventricular (LCR-V) apresenta valores de IgG 2,6 vezes menores que o LCR-L e em publicação posterior, juntamente com Bernhardt<sup>75</sup>, verificou que o LCR sub-occipital (LCR-SO) contém taxas intermediárias (1,6 vezes maiores que as encontradas no LCR-V). Em nosso meio, Livramento<sup>40</sup> também estudou as imunoglobulinas do LCR-SO de adultos. Os resultados obtidos por estes pesquisadores, que estudaram o LCR-SO e —V, acham-se resumidos na tabela 3, visto que todos eles utilizaram IDR em suas investigações.

Autor(es) (Ano)	Método utilizado na quantificação das imunoglobulinas	Número de casos (N)	IgG (mg/100 ml)	IgA (mg/100 ml)	IgM (mg/100 ml)
Kabat & col. <sup>26</sup> (1948)	Precipitação imunoquímica em meio líquido	10	$\bar{X}$ = 2,7 D.P. = 0,65		
Goodman & Vulpe <sup>20</sup> (1961)	Precipitação imunoquímica em meio líquido	19	$\bar{X}$ = 1,50 D.P. = 0,46		
Dencker <sup>12</sup> (1970)	Dupla difusão em gel de agar	18	$\bar{X}$ = 4,4 D.P. = 1,1		
Hayashi & col. <sup>24</sup> (1970)	Dupla difusão em gel de agar	15	$\bar{X}$ = 1,50 D.P. = 0,50	$\bar{X}$ = 0,11 D.P. = 0,05	N.D.
Laffin <sup>30</sup> (1970)	Difusão unidimensional simples	100	$\bar{X}$ = 3,2 D.P. = 1,1		
Tourtellotte <sup>68,69</sup> (1970)	Precipitação imunoquímica em meio líquido	67	$\bar{X}$ = 3,6 D.P. = 0,95		
Levin & col. <sup>34</sup> (1972)	Radioimunensaio	22	$\bar{X}$ = 4,3 V.E. = 2,8-7,5		
Savory & Heintges <sup>55</sup> (1973)	Difusão unidimensional simples	39	$\bar{X}$ = 2,25 D.P. = 0,775	V.E. = 0-0,4	N.D.
Nerenberg & Prasad <sup>49</sup> (1975)	Radioimunensaio	32	$\bar{X}$ = 4,6 D.P. = 1,9	$\bar{X}$ = 0,083 D.P. = 0,051	$\bar{X}$ = 0,017 D.P. = 0,0059
Mingioli & col. <sup>45</sup> (1978)	Radioimunensaio	31	$\bar{X}$ = 1,46 V.E. = 0,42-5,12	$\bar{X}$ = 0,132 V.E. = 0,032-0,55	$\bar{X}$ = 0,00513 V.E. = 0,0073- - 0,361

Tabela 1 - Níveis normais de imunoglobulinas do LCR-L normal de adultos, obtidos por técnicas variadas, segundo alguns autores. Legenda:  $\bar{X}$  = média aritmética, D.P. = desvio-padrão, V.E. = valores extremos, N.D. = não detectável.

Autor(es) (Ano)	Nº de casos ( N )	IgG (mg/100 ml)	IgA (mg/100 ml)	IgM (mg/100 ml)
Hartley & col. <sup>23</sup> (1966)	26	$\bar{X}$ = 2,3	$\bar{X}$ = 0,17	N.D.
Takase & Yoshida <sup>64</sup> (1969)	21	$\bar{X}$ = 1,44 D.P. = 0,53	$\bar{X}$ = 0,2	
Hirsch-Marie <sup>25</sup> (1970)	6	$\bar{X}$ = 2,00 D.P. = 1,00	$\bar{X}$ = 0,2 D.P. = 0,1	N.D.
Tourtellotte <sup>71</sup> (1971)	22	$\bar{X}$ = 2,7 D.P. = 1,08		
Bock <sup>5,6</sup> (1973-1974)	22	$\bar{M}$ = 2,45 V.E. = 0,5-6,5	$\bar{M}$ = 0,16 V.E. = 0-0,90	N.D.
Ganrot & Laurell <sup>17</sup> (1974)	54	$\bar{X}$ = 2,06 D.P. = 1,40		
Besset & col. <sup>4</sup> (1974)	129	$\bar{X}$ = 5,39 D.P. = 2,69		
Schliep & col. <sup>56</sup> (1974)	90	$\bar{X}$ = 1,23 D.P. = 0,64		
	54		$\bar{X}$ = 0,13 D.P. = 0,06	
	22			$\bar{X}$ = 0,06 D.P. = 0,03
Olsson & Petterson <sup>51</sup> (1976)	44	$\bar{X}$ = 1,92 D.P. = 0,58		
Ganrot-Norlin <sup>18</sup> (1978)	90	$\bar{X}$ = 2,8 D.P. = 1,4		
Mingioli & col. <sup>45</sup> (1978)	31	$\bar{X}$ = 1,88 V.E. = 0,61-5,85		
Ahonen & col. <sup>1</sup> (1979)	46	$\bar{X}$ = 2,50 D.P. = 0,43		

Tabela 2 - Níveis normais de imunoglobulinas do LCR-L normal de adultos, obtidos por eletroimunensaio, segundo alguns autores. Legenda:  $\bar{X}$  = média aritmética, D.P. = desvio-padrão, V.E. = valores extremos,  $\bar{M}$  = mediana, N.D. = não detectável.

Autor (es) (Ano)	Número de casos (N)	Local de punção	IgG (mg/100 ml)	IgA (mg/100 ml)	IgM (mg/100 ml)
Gottesleben & Bauer <sup>21</sup> (1967)	48	L	$\bar{X}$ = 1,76 D.P. = 0,41	$\bar{X}$ = 0,23 D.P. = 0,19	N.D.
Paltrinieri <sup>53</sup> (1968)	30	L		$\bar{X}$ = 0,18 D.P. = 0,02	
Clausen & col. <sup>8</sup> (1969)	10	L	$\bar{X}$ = 1,81 D.P. = 0,48		
Delank & Wrede <sup>9</sup> (1969)	20	L	$\bar{X}$ = 1,55 D.P. = 0,75		
Delpach & Rousseau <sup>10</sup> (1969)	49	L	$\bar{X}$ = 2,13 D.P. = 1,23		
Tavolato & De Zanche <sup>66</sup> (1969)	8	L	$\bar{X}$ = 2,66		
Link & Müller <sup>38</sup> (1971)	30	L	$\bar{X}$ = 2,2 D.P. = 0,7	$\bar{X}$ = 0,4*	N.D.
Laterre & Heule <sup>32</sup> (1971)	163	L	$\bar{X}$ = 2,8 D.P. = 1,0		
Yabuki <sup>77</sup> (1972)	40	L	$\bar{X}$ = 2,45		
Glasner & Wenig <sup>19</sup> (1973)	20	L	$\bar{X}$ = 1,5 D.P. = 0,65	$\bar{X}$ = 0,19 D.P. = 0,073	N.D.
Smith & col. <sup>82</sup> (1973)	20	L	$\bar{X}$ = 3,1 D.P. = 1,2	$\bar{X}$ = 0,43 D.P. = 0,55	N.D.
Weisner & col. <sup>76</sup> (1975)	190	L	$\bar{X}$ = 1,9 D.P. = 0,7	V.E. = 0,2 - 0,4**	N.D.
Lamoureux & col. <sup>81</sup> (1975)	174	L	$\bar{X}$ = 1,39 D.P. = 0,658		
Bernhardt & Weisner <sup>8</sup> (1976)	127	L	$\bar{X}$ = 2,3 D.P. = 1,0		N.D.
Weisner <sup>74</sup> (1977)	26	V	$\bar{X}$ = 0,9 D.P. = 0,3	N.D.	
	132	L	$\bar{X}$ = 2,4 D.P. = 1,0		N.D.
Fiocca <sup>15</sup> (1977)	26	L	$\bar{X}$ = 3,61 D.P. = 1,03	$\bar{X}$ = 0,20 D.P. = 0,37	
Mora & col. <sup>47</sup> (1977)	6	L	$\bar{X}$ = 1,57 D.P. = 0,23	$\bar{X}$ = 0,21 D.P. = 0,04	
Livramento <sup>40</sup> (1978)	50	SO	$\bar{X}$ = 2,3 D.P. = 0,59	$\bar{X}$ = 0,34 D.P. = 0,17	N.D.
Monari & col. <sup>46</sup> (1978)	28	L	$\bar{X}$ = 2,43 D.P. = 2,33	$\bar{X}$ = 0,269*** D.P. = 0,28	N.D.
Weisner & Bernhardt <sup>75</sup> (1978)	27	V	$\bar{X}$ = 0,9 D.P. = 0,4	N.D.	N.D.
	33	SO	$\bar{X}$ = 1,4 D.P. = 0,5	N.D.	N.D.
	127	L	$\bar{X}$ = 2,3 D.P. = 1,0	N.D.	N.D.
Ahonen & col. <sup>1</sup> (1979)	46	L	$\bar{X}$ = 2,10 D.P. = 0,7	$\bar{X}$ = 0,15**** D.P. = 0,13	N.D.
Eickhoff & col. <sup>13</sup> (1979)	25	L	$\bar{X}$ = 2,1 D.P. = 1,2		

Tabela 3 - Níveis normais de imunoglobulinas do LCR normal de adultos, obtidos por imunodifusão radial, segundo alguns autores. Legenda:  $\bar{X}$  = média aritmética; D.P. = desvio-padrão; N.D. = não detectável; V.E. = valores extremos. Detectável em: \* 16 das 30 amostras, \*\* 5 das 190 amostras, \*\*\* 10 das 28 amostras, \*\*\*\* 12 das 46 amostras.

As taxas de imunoglobulinas são freqüentemente, expressas como percentagens do total protéico, pois tendo sido observadas correlações entre os níveis de IgG e/ou IgA e os de proteínas totais <sup>6,8,10,46,53,76</sup>, aumentos absolutos nas taxas de imunoglobulinas poderiam ser mero reflexo do aumento da proteinorraquia total. Já elevações nos valores relativos de imunoglobulinas permitem melhor avaliação da possibilidade de síntese ou liberação das imunoglobulinas no LCR <sup>1,37,67</sup>.

Os valores percentuais médios de IgG, do LCR-L calculados por vários autores <sup>1,10,13,16,23,26,30,32,34,37,38,39,45,46,50,55,64,67,68,69,70,76</sup>, oscilam entre os encontrados por Takase & Yoshida <sup>64</sup> ( $4,4 \pm 1,25\%$ ) e por Levin e col. <sup>34</sup> (11,6%).

Os níveis percentuais médios de IgA foram determinados em algumas investigações <sup>37,45,46,50,53,55</sup> e variaram entre os obtidos por Nerenberg e col. <sup>50</sup> (0,14%) e por Monari e col. <sup>46</sup> (1,25%).

As taxas percentuais médias encontradas para IgM foram de  $0,03 \pm 0,006\%$ , por Nerenberg e col. <sup>49,50</sup> e  $0,016\%$  por Mingioli e col. <sup>45</sup>. Link observou que as taxas normais não ultrapassam  $0,7\%$  <sup>37</sup>.

Quanto aos níveis percentuais médios de imunoglobulinas do LCR-SO, somente encontramos os dados de Livramento que calculou para IgG média de  $12,1 \pm 4,8\%$  do total protéico <sup>40</sup>. Este autor, embora não mencionando a taxa percentual média de IgA encontrada, forneceu em seu trabalho dados suficientes para o cálculo deste valor:  $1,68 \pm 0,81\%$ .

Na literatura compulsada, a única publicação concernente à influência racial sobre os teores de imunoglobulinas do LCR normal, foi a de Nerenberg & Prasad que não verificaram quaisquer variações nos níveis de imunoglobulinas ligadas à cor <sup>49</sup>.

Diferenças significantes quanto aos níveis de imunoglobulinas do LCR considerado normal entre homens e mulheres, não foram verificadas por vários pesquisadores <sup>1,2,49,67,77</sup>. Em crianças também não foram encontradas diferenças, quanto ao teor de IgG, entre meninos e meninas até 14 anos <sup>29,36</sup>.

Segundo alguns autores que estudaram o LCR-L normal de adultos existe correlação significativa entre as taxas de IgG e idade <sup>3,49,67</sup>. Tibbling e col. assinalaram que, embora as taxas de IgG aumentem com a idade, a relação IgG/proteínas totais não apresenta tal variação, sendo o aumento de IgG em valor absoluto análogo à elevação na proteinorraquia total (que ocorre com o avançar da idade) <sup>67</sup>. Nerenberg & Prasad também observaram correlação significativa entre idade e níveis de IgA <sup>49</sup>. Yabuki, no entanto, não verificou variações dependentes da idade nos níveis de IgG do LCR-L normal de adultos <sup>77</sup>.

As taxas de imunoglobulinas do LCR-L normal de crianças também tem sido objeto de estudo de alguns pesquisadores.

Em 1971, Nellhaus, por EIE, quantificou pela primeira vez IgG no LCR-L normal de 73 crianças (de 1 a 14 anos) obtendo em média  $4,61 \pm 1,77\%$  do total protéico, e não encontrou correlação significativa entre os níveis percen-

tuais de IgG e idade. Verificou ele, no entanto, tendência a aumento desta imunoglobulina em crianças com mais de 8 anos e diferença significativa quanto às médias dos valores percentuais de IgG, entre crianças e adultos<sup>48</sup>.

Karitzky encontrou por IDR, níveis médios de IgG de  $1,07 \pm 0,52$  mg/100 ml em 38 crianças de 6 semanas a 14 anos<sup>27</sup>.

Harms, observou, por IDR que a IgG do LCR-L de recém-nascidos com menos de 14 dias apresenta-se em níveis iguais ou superiores aos de adultos; as taxas de IgG então decrescem atingindo os mais baixos valores entre 2 e 8 meses. A partir desta idade, há aumento gradual nos níveis desta imunoglobulina, começando a atingir os valores encontrados em adultos a partir de 8 anos<sup>22</sup>.

Krause & Wisser, ao quantificar IgG, por IDR, no LCR-L normal de 109 crianças com até 13 anos, observaram influência da idade nos níveis desta imunoglobulina: 16 bebês com menos de 6 meses apresentaram em média  $2,56 \pm 1,43$  mg/100 ml; crianças com 6 e 24 meses tinham baixos teores de IgG (média de  $1,18 \pm 0,63$  mg/100 ml) e as taxas desta imunoglobulina tendiam a aumentar com a idade (porém a correlação encontrada não foi estatisticamente significativa), atingindo média de  $1,80 \pm 0,57$  mg/100 ml no grupo formado por crianças com 10 a 13 anos<sup>29</sup>.

Liappis & Jäkel, por IDR, encontraram resultados surpreendentes. Em 105 amostras de LCR-L de crianças com 1 mês a 14 anos, observaram médias (nas taxas de IgG) significativamente diferentes entre bebês do sexo feminino com 1 a 24 meses ( $0,22 \pm 0,30$  mg/100 ml) e meninas com 2 a 14 anos ( $0,89 \pm 0,61$  mg/100 ml), não havendo tal diferença entre bebês do sexo masculino ( $0,75 \pm 1,07$  mg/100 ml) e meninos ( $0,80 \pm 0,67$  mg/100 ml)<sup>36</sup>.

Mietens & Quarcoo quantificaram, por IDR, IgG no LCR-L normal de 75 crianças e não encontraram diferenças, estatisticamente significantes, entre 3 grupos etários: de 1 a 12 meses ( $1,5 \pm 1,0$  mg/100 ml), 1 a 5 anos ( $1,26 \pm 0,6$  mg/100 ml), 5 a 12 anos ( $1,57 \pm 0,9$  mg/100 ml) e por isto calcularam média de IgG comum para os 3 grupos ( $1,41 \pm 0,8$  mg/100 ml), assinalando que este valor é igual àquele encontrado em adultos<sup>44</sup>.

Buchanam & MacNab quantificaram IgG no LCR de 34 crianças, de 6 meses a 8 anos, por IDR, obtendo média de  $3,14$  mg/100 ml e a relação IgG/proteínas totais calculada foi de, em média, 19,2%<sup>7</sup>.

Aplicando difusão unidimensional simples, em 17 amostras de LCR-L de crianças com 2 a 12 anos, Savory & Heintges obtiveram para IgG média de  $1,2 \pm 0,25$  mg/100 ml ( $6,1 \pm 1,3\%$ )<sup>55</sup>.

IgA e IgM não puderam ser quantificadas no LCR normal de crianças, por vários autores<sup>7,27,29,55</sup>. No entanto, Mietens & Quarcoo conseguiram dosar IgA em 50% dos lactentes estudados (com 1 a 12 meses de idade) obtendo média de  $0,048$  mg/100 ml, 50% das crianças com 1 a 5 anos e 76% daquelas com 5 a 12 anos, obtendo respectivamente,  $0,09$  e  $0,08$  mg/100 ml em média. IgM somente foi detectada em 3 das 35 amostras de LCR de crianças com 1 a 5 anos de idade<sup>44</sup>.

O objetivo deste trabalho é contribuir no estabelecimento das taxas normais das imunoglobulinas G, A e M no LCR-SO em nosso meio, verificando também se existem variações quanto aos níveis desta imunoglobulinas, ligadas ao sexo, cor e idade.

#### MATERIAL E METODOS

Foi estudada a IgG em 116 amostras de LCR normal, colhidas por punção sub-occipital. Estas amostras provieram de pacientes de ambulatório, com queixas variadas (cefaléias vasculares, sinusites, comiciais essenciais, neuroses) que levavam à suspeita de patologia do sistema nervoso que induzissem alterações do LCR, as quais não foram confirmadas pelo exame da amostra.

Dos 116 casos, 20 provieram de crianças com idades variáveis entre 14 meses e 11 anos, sendo 10 meninos e 10 meninas, 91 de pessoas com 12 a 79 anos, sendo 55 do sexo masculino (41 brancas e 14 pretas ou pardas) e 41 do sexo feminino (37 brancas e 4 pretas ou pardas).

Todos os pacientes apresentaram 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.

Todas as amostras apresentaram teor protéico (determinado pelo método de Lowry e col. 41) e frações protéicas (obtido por eletroforese sobre acetato de celulose) dentro dos limites normais previamente estabelecidos para nosso meio 73.

A IgA foi dosada em 94 destas 116 amostras, sendo 44 provenientes de homens (34 brancos e 10 pretos ou pardos), 34 de mulheres (31 brancas e 3 pretas ou pardas) e 16 crianças (8 do sexo masculino e 8 do sexo feminino). A IgM foi quantificada em 45 dos 94 casos em que foram dosadas IgG e IgA, sendo 19 provenientes de homens (14 brancos e 5 pretos ou pardos), 16 de mulheres (15 brancas e uma preta) e 10 de crianças (7 do sexo masculino e 3 do feminino).

A quantificação das imunoglobulinas G, A e M foi realizada por IDR, segundo Mancini e col. 42, utilizando placas tipo LC — Partigen e soros padrão, fabricados pela Behringwerk AG. Para quantificação de IgG foram depositados, em cada poço da placa 20 microlitros de LCR não concentrado. A quantificação de IgA foi feita com 20 microlitros de LCR previamente concentrado 6 a 70 vezes, conforme o teor protéico total e o volume de LCR recebido. A dosagem de IgM foi realizada com 20 a 40 microlitros de LCR concentrado 32 a 142 vezes, conforme a taxa de proteínas totais e o volume recebido.

Todas as amostras de LCR nas quais foram quantificadas as imunoglobulinas A e/ou M foram concentradas por diálise contra solução de goma-arábica. A avaliação do número de vezes em que cada amostra foi concentrada, tanto para dosagem de IgA como de IgM, foi calculada pela razão entre taxa de proteínas totais do material concentrado e protei-norraquia total, ambas dosadas pelo método de Lowry e col. 41.

Após o término da difusão, foi adicionada solução de ácido tânico a 4%, pH 1,5, sobre o gel da placa, para facilitar a visualização dos halos de precipitação 61. A leitura



das placas foi realizada por meio de imunoscópio de projeção, montado nos laboratórios da Carl Zeiss Companhia Ótica e Mecânica 65.

Para averiguar possíveis diferenças quanto aos níveis médios de IgG, IgA e IgM entre crianças do sexo masculino e feminino, entre homens pretos ou pardos e brancos e entre mulheres pretas ou pardas e brancas, foi utilizada a distribuição de frequência "t" de Student. Os valores médios e respectivos desvios-padrão, dos níveis das imunoglobulinas, foram calculados para estes 6 grupos de pessoas, em mg/100 ml e em porcentagem do total protéico. Quando não ocorriam diferenças significantes entre os pares de grupos estudados, estes eram reunidos para cálculos de média, desvio-padrão e intervalo de confiança. Comparações entre as médias de 3 ou mais grupos de pessoas quanto às taxas absolutas e relativas, de IgG, IgA e IgM, foram efetuadas mediante análise de variância seguida pelo teste de Scheffé, quando necessário. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado, para averiguar variações nos níveis, absolutos e relativos, das imunoglobulinas com a idade. A distribuição "t" de Student ou a normal (dependendo do tamanho da amostra) foi aplicada na verificação de significância destas correlações. Todos os valores percentuais foram transformados em arco-seno  $\sqrt{\text{porcentagem}}$  de Snedecor, antes de serem submetidos às análises estatísticas comparativas entre os diferentes grupos de pessoas e aos estudos de correlação com idade. O nível de rejeição para todas as análises realizadas foi de 5%.

## RESULTADOS

As médias, desvios-padrão e valores extremos obtidos nas quantificações de IgG, IgA e IgM em crianças do sexo masculino e feminino (separadamente) acham-se na tabela 4, assim como os resultados das análises estatísticas para verificação de diferenças quanto aos níveis de IgG e IgA ligadas ao sexo em crianças. O teste para verificação de diferenças quanto aos valores médios de IgM entre meninos e meninas não foi realizado por ser pequeno o tamanho da amostra.

Foram calculadas as médias e desvios-padrão para as taxas de imunoglobulinas de crianças (agrupando os dois sexos) por não terem sido encontradas diferenças significantes entre meninos e meninas tanto em mg/100 ml como em porcentagem do total protéico. Estes dados acham-se na tabela 7.

Os valores, absolutos e relativos, médios e respectivos desvios-padrão de IgG e IgA do LCR de mulheres pretas ou pardas acham-se na tabela 5, assim como os valores extremos. A IgM só foi dosada em 1 caso deste grupo de pessoas. Neste mesmo quadro encontram-se as médias, desvios-padrão e valores extremos das taxas, de cada uma das três imunoglobulinas, calculados para o grupo de mulheres brancas. Em virtude de ser pequeno o número de mulheres pretas ou pardas, nas quais foram quantificadas as imunoglobulinas do LCR, não foram realizados os testes para verificação de diferenças aplicadas à cor nos níveis de imunoglobulinas de mulheres. Na tabela 7 acham-se as médias e desvios-padrão calculados para o grupo de mulheres (reunindo aquelas de cor preta, parda e branca).

Os resultados dos cálculos estatísticos para verificação de diferenças ligadas à cor, nos níveis de imunoglobulinas do LCR, de homens, acham-se na tabela 6, assim como as médias, desvios-padrão e valores extremos obtidos para cada imunoglobulina estudada

Imunoglobulinas		Crianças do sexo masculino				Crianças do sexo feminino				"t"
		N	$\bar{X}$	D.P.	V.E.	N	$\bar{X}$	D.P.	V.E.	
mg/100 ml	G	10	1,51	0,59	1,00-2,65	10	1,62	0,79	1,00-2,90	0,33
	A	8	0,030	0,025	0,00-0,070	8	0,071	0,059	0,013-0,153	1,80
	M	7	0,013	0,023	0,00-0,063	3	0,007	0,013	0,00-0,022	N.R.
% do total protéico	G	10	7,47	2,37	4,73-10,65	10	7,32	2,05	5,56-10,92	0,11
	A	8	0,15	0,11	0,00-0,28	8	0,32	0,29	0,05-0,80	1,67
	M	7	0,06	0,09	0,00-0,25	3	0,66	1,27	0,00-0,12	N.R.

Tabela 4 - Médias ( $\bar{X}$ ), desvios-padrão (D.P.) e valores extremos (V.E.) das taxas das imunoglobulinas G, A e M do LCR-SO normal de crianças do sexo masculino e feminino. Comparação entre as médias destes dois grupos pelo teste "t" de Student. Valores críticos de "t" = 2,10 e 2,14, respectivamente para as análises do IgG e IgA. N.R. = não realizado por ser pequeno o número (N) de crianças do sexo feminino.

em pretos ou pardos e brancos, separadamente. Não tendo sido observadas quaisquer diferenças quanto às taxas de imunoglobulinas entre homens pretos ou pardos e brancos, foram calculados médias e desvios-padrão, destas taxas, para o grupo de homens. Estes valores acham-se na tabela 7.

Em virtude de não terem sido verificadas diferenças significantes quanto aos níveis médios de imunoglobulinas do LCR ligadas à cor em adultos e ao sexo em crianças, foram comparadas as médias dos valores das três imunoglobulinas de crianças, mulheres e homens, por análise de variância. Na tabela 7, além das médias e desvios-padrão calculados para as taxas de imunoglobulinas destes três grupos de pessoas, acham-se os resultados obtidos para verificação de diferenças entre homens, mulheres e crianças quanto aos níveis médios de imunoglobulinas do LCR. Foram observadas diferenças significantes entre os três grupos nas taxas médias de IgA, tanto em mg/100 ml como em percentagem do total protéico, e de IgG em mg/100 ml. Estes dados foram então submetidos a testes de Scheffé que demonstraram ser os níveis médios percentuais de IgA de crianças inferiores àqueles encontrados em homens e em mulheres, e os de

Imunoglobulinas	Mulheres pretas ou pardas				Mulheres brancas				
	N	$\bar{X}$	D.P.	V.E.	N	$\bar{X}$	D.P.	V.E.	
mg/100 ml	G	4	1,49	0,26	1,22-1,80	37	2,09	0,73	0,80-3,60
	A	3	0,127	0,151	0,032-0,301	31	0,107	0,071	0,032-0,238
	M	1	0,00	-	-	15	0,025	0,014	0,000-0,054
% do total proteico	G	4	5,61	0,97	4,43-6,63	37	7,90	2,11	3,65-13,00
	A	3	0,38	0,39	0,14-0,83	31	0,41	0,23	0,11-1,02
	M	1	0,00	-	-	15	0,09	0,05	0,00-0,19

Tabela 5 - Médias ( $\bar{X}$ ), desvios-padrão (D.P) e valores extremos (V.E.) das taxas das imunoglobulinas G, A e M do LCR-SO normal de mulheres pretas ou pardas e brancas.

IgG e IgA, em mg/100 ml, de crianças menores que aqueles encontrados no LCR de homens. Cumpre notar que em mulheres, as taxas médias destes valores (em que ocorreram diferenças significantes entre os três grupos) são intermediários entre aquelas verificadas em homens e crianças.

Homens, mulheres e crianças não apresentaram diferenças significantes no tocante às taxas médias de IgM (tanto absolutas como relativas) nem nas percentuais de IgG. Por isto, para verificar se existe correlação entre os níveis destas imunoglobulinas e idade, os 3 grupos de pessoas foram reunidas para cálculos dos coeficientes de correlação de Pearson. Os resultados destes cálculos assim como as verificações de significância das correlações acham-se na tabela 8.

Visto que as taxas médias: percentuais de IgA, absolutas de IgG e de IgA, encontradas no LCR de crianças eram significativamente diferentes daquelas de homens, e no caso de IgA em percentagem também era diferente das de mulheres, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson separadamente para homens, mulheres e crianças, para verificar se existem variações significantes entre os níveis destas imunoglobulinas, ligadas à idade. Os resultados destes cálculos acham-se na tabela 9, onde se pode

Imunoglobulinas	Homens pretos ou pardos				Homens brancos				"t"	
	N	X	D.P.	V.E.	N	$\bar{X}$	D.P.	V.E.		
mg/100 ml	G	14	2,65	1,01	1,25-3,80	41	2,33	0,92	0,80-4,90	1,09
	A	10	0,125	0,077	0,039-0,295	34	0,164	0,104	0,038-0,560	1,08
	M	5	0,014	0,013	0,000-0,028	14	0,026	0,016	0,000-0,056	1,55
% do total protéico	G	14	8,30	2,37	2,92-12,18	41	7,42	2,25	2,41-11,30	1,19
	A	10	0,34	0,12	0,21-0,63	34	0,52	0,29	0,17-1,53	2,01
	M	5	0,04	0,04	0,00-0,09	14	0,08	0,05	0,00-0,17	1,87

Tabela 6 - Médias (X), desvios-padrão (D.P.) e valores extremos (V.E.) das taxas das imunoglobulinas G, A e M do LCR-SO normal de homens pretos ou pardos e brancos. Comparação entre as médias destes dois grupos pelo teste "t" de Student. Valores críticos de "t" = 2,01; 2,02, 2,11, respectivamente para as análises de IgG, IgA e IgM.

observar que não existem correlações significantes entre o fator idade e os níveis destas imunoglobulinas, em nenhum dos 3 grupos de pessoas.

Como não foram encontradas diferenças significantes entre os níveis médios de IgG (em mg/100 ml) e de IgA (em mg/100 ml e percentualmente) entre homens e mulheres, fez-se necessário calcular também os coeficientes de correlação de Pearson (r), e verificar a significância destas correlações (K), para o grupo de adultos a fim de verificar se existem variações nos níveis destas imunoglobulinas como a idade, em adultos. Verificou-se que, neste grupo não existem correlações significantes entre idade e taxas de IgG em mg/100 ml ( $r = 0,13$ ;  $K = 1,30$ ), IgA em mg/100 ml ( $r = 0,13$ ;  $K = 1,13$ ) nem IgA em percentagem do total protéico ( $r = 0,03$ ;  $K = 0,23$ ).

#### COMENTARIOS

A quantificação de imunoglobulinas do LCR normal foi realizada pelo método de IDR por ser preciso, bastante difundido e sendo de simples execução,

Imunoglobulinas	Crianças			Mulheres			Homens			F de Snedecor	Teste de Scheffé		
	N	X	D.P.	N	X	D.P.	N	X	D.P.		Crianças X Mulheres	Crianças X Homens	Mulheres X Homens
	mg/100 ml												
G	20	1,57	0,68	41	2,03	0,72	55	2,41	0,95	7,83*	2,06	3,87*	2,18
A	16	0,051	0,048	34	0,109	0,078	44	0,155	0,099	9,39*	2,27	4,22*	2,38
M	10	0,011	0,020	16	0,024	0,015	19	0,023	0,016	1,98	-	-	-
% do total proteico													
G	20	7,39	2,16	41	7,68	2,13	55	7,64	2,29	0,11	-	-	-
A	16	0,23	0,23	34	0,41	0,25	44	0,48	0,27	9,78*	3,22*	4,42*	1,38
M	10	0,05	0,08	16	0,08	0,05	19	0,07	0,05	2,41	-	-	-

Tabela 7 - Médias (X) e desvios-padrão (D.P.) das taxas de imunoglobulinas G, A e M 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; F<sub>α</sub> (para o teste de Scheffé) = 2,45 e 2,49, respectivamente para os contrastes de IgG e IgA. Os valores estatisticamente significantes acham-se assinalados com asterisco.

Imunoglobulinas	N	r	K
G (% do total proteico)	116	-0,02	0,24
M (mg/100 ml)	45	0,09	0,06
M (% do total proteico)	45	0,13	0,87

Tabela 8 - Análise estatística: correlação entre idade e taxas das imunoglobulinas G (em % do total proteico), M (em mg/100 ml e em % do total proteico) do LCR-SO normal, da população estudada, pelo coeficiente de correlação de Pearson (r) e verificação de significância deste coeficiente (K). Valor crítico de K = 1,96.

Imunoglobulinas	Crianças			Mulheres			Homens		
	N	r	t	N	r	K	N	r	K
G (mg/100 ml)	20	0,42	1,96	41	-0,06	0,39	55	0,20	1,46
A (mg/100 ml)	16	0,38	1,64	34	-0,06	0,33	44	0,19	1,27
A (% do total proteico)	16	0,39	1,72	34	-0,04	0,24	44	0,05	0,30

Tabela 9 - Análise estatística: correlação entre idade e taxas das imunoglobulinas G (em mg/100 ml), A (em mg/100 ml e em % do total proteico) do LCR-SO normal de crianças, mulheres e homens pelo coeficiente de correlação de Pearson (r) e verificação de significância deste coeficiente (t ou K). Valores críticos: de t = 2,10 e 2,14, respectivamente, para as análises de IgG e IgA; de K = 1,96.

Autor (es) (Ano)	Nº de casos	IgG	
		mg/100 ml	% do total proteico
Nellhaus <sup>48</sup> (1971)	73	-	4,61 ± 1,77
Buchanam & Macnab <sup>7</sup> (1972)	34	3,14	19,2
Savory & Heintges <sup>55</sup> (1973)	17	1,2 ± 0,25	6,1 ± 1,3
Karitzky <sup>27</sup> (1975)	38	1,07 ± 0,52	-
Krause & Wisser <sup>29</sup> (1975)	80	1,35 ± 0,59	-
Harms <sup>22</sup> (1975)	62	1,13*	4,10*
Liappis & Jakel <sup>36</sup> (1976)	65	0,85*	-
Mietens & Quarcoo <sup>44</sup> (1977)	75	1,41 ± 0,80	-
Presente investigação	20	1,57 ± 0,68	7,39 ± 2,16

Tabela 10 - Médias e desvios-padrão ( $\bar{X} \pm D.P.$ ) dos valores de IgG do LCR normal de crianças. Resultados registrados por alguns autores e os da presente investigação. \* valores calculados por nós.

Autor (es) (Ano)	Nº de casos	IgG (%)	IgA (%)	IgM (%)
Paltrinieri <sup>53</sup> (1968)	30	-	0,6 ± 0,4	-
Link & Müller <sup>38</sup> (1971)	31	6,1 ± 2,2	-	-
Tibbling & col. <sup>67</sup> (1977)	93	5,3 ± 1,3	-	-
Livramento <sup>40</sup> (1978)	50	12,1 ± 4,8	1,8 ± 0,81*	-
Mingioli & col. <sup>45</sup> (1978)	31	4,53	0,42	0,016 ± 0,0031
Eickhoff & col. <sup>13</sup> (1979)	25	5,9 ± 2,2	-	-
Presente investi- gação	116	7,6 ± 2,20	-	-
	78	-	0,44 ± 0,23	-
	45	-	-	0,071 ± 0,058**

Tabela 11 - Médias e desvios-padrão ( $\bar{X} \pm D.P.$ ) dos valores relativos de IgG, IgA e IgM do LCR normal de adultos registrados por alguns autores e os da presente investigação. \* valores calculados por nós, \*\* valores calculados para toda a população, reunindo crianças e adultos

não exigindo aparelhagem sofisticada, pode facilmente ser aplicado em laboratórios de rotina. No entanto, a sensibilidade deste método não é suficientemente boa para quantificar IgA e IgM no LCR não concentrado, embora o seja para IgG.

Os valores obtidos, no presente trabalho, quanto aos níveis de IgA e IgM devem ser encarados pois com cautela, visto que para superar a baixa sensibilidade do método foi necessário concentrar as amostras de LCR, antes de quantificar IgA e IgM, e também dosar as proteínas totais do material concentrado (para avaliar o número de vezes que foi concentrado), gerando assim um acúmulo de erros e grande variabilidade dos valores obtidos para estas duas imunoglobulinas.

Como já mencionado, o estudo da influência racial nos níveis de imunoglobulinas foi efetuado apenas em homens em decorrência do pequeno número de amostras de LCR de mulheres pretas ou pardas, nas quais foram realizadas estas

quantificações. Foi previamente verificado que as médias das idades dos homens pretos ou pardos e brancos nos quais foram dosadas as imunoglobulinas, não diferiam significativamente entre si.

Concordando com Nerenberg & Prasad<sup>49</sup>, que trabalhando com pequeno número de amostras de LCR de norte-americanos, não observaram variações nos níveis de imunoglobulinas ligadas à cor, na presente investigação também não foram encontradas diferenças significantes entre as taxas médias de imunoglobulinas de pretos ou pardos e brancos.

O estabelecimento das taxas fisiológicas das imunoglobulinas do LCR-SO, assim como os estudos para averiguação de possíveis diferenças, nestes valores, ligadas ao sexo e idade puderam, pois, ser efetuados reunindo pretos, pardos e brancos.

Dado que vários pesquisadores observaram correlações positivas entre os níveis de proteínas totais e das imunoglobulinas, principalmente IgG<sup>6,8,10,46,53,76</sup>, e visto que a proteinorraquia total aumenta com a idade, foi tomada a precaução de observar, antes de analisar variações ligadas ao sexo, se homens e mulheres, que compuseram a população estudada, apresentavam diferenças quanto à idade, o mesmo sendo feito para crianças do sexo masculino e feminino. Não foram encontradas diferenças significantes entre as médias das idades de homens e de mulheres, nem entre crianças do sexo masculino e feminino, não ocorrendo portanto, influência notável do fator idade sobre os resultados obtidos quando foram estudadas as diferenças nos níveis de imunoglobulinas ligadas ao sexo.

*Taxas normais de imunoglobulinas do LCR-SO de crianças* — Confirmando os achados de outros autores<sup>29,36</sup>, na presente investigação também não foram encontradas diferenças significantes, quanto aos níveis médios das imunoglobulinas estudadas, entre crianças do sexo masculino e feminino.

Em face destes resultados, foi possível calcular as médias e respectivos desvios-padrão, dos valores de IgG, IgA e IgM de crianças, reunindo aquelas do sexo masculino e feminino.

A taxa média de IgG, em mg/100 ml, encontrada no LCR de crianças é menor que aquelas encontradas em adultos, sendo significativamente diferente da de homens. Esta diferença significante existente somente entre homens e crianças, porém não entre mulheres e crianças deve-se ao fato de que o valor médio de IgG do LCR de mulheres é intermediário entre aqueles de crianças e de homens; em decorrência disto, a diferença entre as taxas médias de mulheres e crianças é menor que entre homens e crianças.

Já a relação IgG/proteínas totais, expressa em percentagem, de crianças, não difere da de adultos, devido aos baixos teores protéicos encontrados naquelas<sup>73</sup>.

Os resultados obtidos na quantificação de IgG do LCR, em valores absolutos, estão de acordo com aqueles registrados por Savory & Heintges que, ao comparar os níveis desta imunoglobulina em crianças e em adultos, observaram taxas mais elevadas nestes últimos<sup>55</sup>.



Por outro lado os resultados aqui obtidos, quanto aos níveis percentuais de IgG, discordam daqueles registrados no trabalho pioneiro de Nellhaus que afirma serem estes valores significativamente menores em crianças que em adultos <sup>48</sup>.

Na tabela 10 acham-se as taxas médias e respectivos desvios-padrão obtidos por alguns pesquisadores que quantificaram IgG no LCR-L de crianças, assim como os resultados obtidos na presente investigação. Pela análise desta tabela verifica-se que os valores absolutos médios de IgG do LCR de crianças obtidos pelos diferentes investigadores são bastante discrepantes variando desde 0,85 mg/100 ml até 3,14 mg/100 ml <sup>7,36</sup>; no entanto, em linhas gerais os resultados aqui obtidos aproximam-se daqueles registrados por Krause & Wisser <sup>29</sup> e por Mietens & Quarcoo <sup>44</sup>.

Buchanam & MacNab, ao observarem altas taxas percentuais de IgG no LCR de crianças atribuíram este achado ao fato de suas amostras provirem de crianças mal-nutridas, tanto assim que a proteinorraquia total e a albumina sérica destas crianças encontravam-se em baixos níveis; constituindo a albumina do LCR cerca de 60% do total protéico e sendo derivada do sangue os autores puderam inferir que as baixas concentrações protéicas do LCR, gerando altas taxas percentuais de IgG, destas crianças eram manifestações da má nutrição protéico-calórica <sup>7</sup>.

A média percentual de IgG aqui obtida foi mais elevada que aquelas registradas por outros investigadores <sup>22,48,55</sup>. Se este resultado é devido às mesmas razões apontadas por Buchanam & MacNab <sup>7</sup>, porém em menor grau, ou se é meramente reflexo do fato de terem sido aqui utilizadas amostras de LCR-SO (que sabidamente têm conteúdo protéico mais baixo, devido principalmente a menores níveis de albumina) ao invés de LCR-L, é um ponto ainda a ser esclarecido.

As taxas médias de IgA são significativamente mais baixas em crianças que em adultos, tanto em valores absolutos como relativos. Na literatura consultada, não foi encontrado nenhum dado comparativo entre os níveis de IgA de crianças e adultos. Apenas Mietens & Quarcoo conseguiram quantificar por IDR esta imunoglobulina, em 50% das amostras de LCR de crianças com 1 a 5 anos e 76% das amostras de crianças com 5 a 12 anos, obtendo respectivamente taxas médias de 0,09 e 0,08 mg/100 ml <sup>44</sup>.

No presente trabalho foi possível verificar a existência de IgA em todas as amostras de LCR, embora em dois casos os níveis desta imunoglobulina eram tão baixos que fugiam da sensibilidade de quantificação do método.

O fato dos níveis percentuais médios de IgA do LCR de crianças serem significativamente menores que aqueles encontrados em adultos poderia ser reflexo do desenvolvimento desta imunoglobulina no decorrer da infância, pois a IgA sérica atinge os níveis encontrados em adultos bem mais tardiamente que as imunoglobulinas G e M <sup>63</sup>; também poder-se-ia levantar a hipótese de que na infância seria mais pronunciada a seletividade da barreira hêmato-liquórica, para IgA, ou ainda que ambos os fenômenos estariam interagindo.

Não foram observadas diferenças entre crianças e adultos, no tocante às taxas médias de IgM do LCR. No entanto, além da grande variabilidade de valores obtidos para esta imunoglobulina, como já apontado, decorrente da metodologia usada, foi possível quantificar IgM em apenas 10 amostras de LCR de crianças, número este muito pequeno. Destas 10 amostras, convém relatar que em 3 delas, embora pudessem ser verificados pequenos halos de precipitação, não foi possível quantificar IgM dado que os diâmetros destes halos eram menores que aqueles obtidos pelos padrões com menor teor desta imunoglobulina, e em outras três amostras não foi possível sequer verificar a existência de IgM. Seria pois prudente acumular mais dados a respeito da IgM, do LCR, na infância, se possível mediante metodologia mais sensível.

Na presente investigação não foi observada correlação significativa entre as taxas absolutas de IgG e idade, em crianças, estando tal resultado de acordo com os registrados por outros autores<sup>29,44</sup>. Não foram também observadas correlações entre idade e taxas de IgA, tanto absolutas como relativas. No entanto, é importante frisar que o tamanho da amostra, para este tipo de estudo, foi pequeno, principalmente devido às dificuldades de obtenção de volumes razoáveis de LCR normal de crianças. Por isto, seria desejável quantificar, principalmente IgA, em maior número de amostras de LCR normal de crianças, para confirmar tais achados.

Em suma, mediante a metodologia usada pode-se definir os níveis fisiológicos (através dos cálculos dos intervalos de confiança para 95,5% da população) de IgG do LCR de crianças, como variando entre 0,21 e 2,93 mg/100 ml; de IgA, não ultrapassando 0,15 mg/100 ml e em valores relativos como sendo menores que 0,7%.

Dado não terem sido reveladas diferenças entre adultos e crianças quanto às taxas de IgM (tanto absolutas como relativas) e de IgG (em percentagem) os níveis fisiológicos destes valores foram calculados reunindo crianças e adultos.

*Taxas normais de imunoglobulinas de LCR-SO de adultos* — A ausência de diferenças ligadas ao sexo, aqui encontradas, nos níveis absolutos médios de IgG, IgA e IgM estão de acordo com as conclusões a que chegaram outros investigadores<sup>1,49,67</sup>.

Os resultados obtidos, no presente trabalho, referentes à influência da idade nos níveis absolutos de IgG e IgA, não permitem concordar com alguns pesquisadores<sup>3,49,67</sup>, que encontraram elevações significantes nas taxas absolutas destas imunoglobulinas em adultos, com o avançar da idade; estão, no entanto, de acordo com Yabuki<sup>77</sup>, que também não verificou influência da idade nos níveis absolutos de IgG do LCR de adultos.

Dado que não foram encontradas diferenças significantes quanto às taxas absolutas de IgM, entre crianças e adultos, a influência da idade nos níveis desta imunoglobulina foi estudada reunindo todas as amostras de LCR nas quais foi possível quantificar IgM. Os resultados obtidos não indicaram influência da idade nas taxas de IgM, o que está de acordo com as conclusões a que chegaram Nerenberg & Prasad, que efetuaram este tipo de estudo mediante metodologia muito sensível<sup>49</sup>.

Assim, no LCR normal, mediante a metodologia utilizada, a taxa média e respectivo desvio-padrão para IgM é  $0,0205 \pm 0,017$  mg/100 ml. No LCR normal de adultos, os níveis médios, e desvios-padrão para IgG e IgA são, respectivamente,  $2,25 \pm 0,87$  e  $0,135 \pm 0,092$  mg/100 ml.

Os resultados obtidos na quantificação de IgG do LCR de adultos, no material estudado, estão de acordo com os obtidos pela maioria dos investigadores, independentemente da metodologia usada, como se pode depreender ao comparar estes valores com aqueles registrados nas tabelas 1, 2 e 3. Fazem exceção os trabalhos efetuados mediante EIE por Besset e col.<sup>4</sup>, que registraram para IgG valores médios de  $539 \pm 2,69$  mg/100 ml, assim como os resultados a que chegaram Nerenberg, respectivamente médias de 4,5 e 4,3 mg/100 ml.

A IgA, devido à dificuldade de quantificá-la no LCR normal, assim como pela sua menor importância nas avaliações de afecções do sistema nervoso central, tem sido menos estudada. Os resultados aqui obtidos são, em linhas gerais, semelhantes àqueles a que chegaram outros autores, como se pode observar pela análise dos valores obtidos nesta investigação e aqueles registrados nas tabelas 1, 2 e 3.

Cumprir observar que no presente estudo foi possível quantificar IgA em todas as amostras de LCR normal de adultos, fato este que não ocorreu em todos os trabalhos anteriores <sup>5,6,25,38,39,40,55,58,62,75,76</sup>.

A quantificação de IgM no LCR, apesar de sua importância por ser usualmente a primeira imunoglobulina a aumentar em processos infecciosos, somente foi efetuada, em condições normais, mediante radioimunensaio por Nerenberg & Prasad<sup>49</sup> e por Mingioli e col.<sup>45</sup>, e mediante EIE por Schlep e col.<sup>56</sup>, dadas as baixíssimas concentrações em que esta imunoglobulina se encontra no LCR normal.

Das 45 amostras analisadas quanto ao teor de IgM, em 3 não foi possível verificar sua existência, enquanto em 8 podia-se observar sua presença em quantidades, no entanto, não mensuráveis pelo método utilizado.

As taxas percentuais de IgG não apresentaram variações ligadas ao sexo e/ou à idade, fato este que está de acordo com as conclusões de outros autores<sup>1,67</sup>. Assim, o valor médio, e respectivo desvio-padrão, para IgG encontrado no LCR-SO é  $7,61 \pm 2,20\%$ .

A IgA do LCR-SO normal de adultos perfaz em média  $0,44 \pm 0,23\%$  do total protéico, e não foram verificadas variações ligadas ao sexo nas taxas relativas desta imunoglobulina. Em adultos também não foi verificada influência da idade nestes valores.

A IgM representou em média,  $0,07 \pm 0,06\%$  do total protéico, na população estudada.

Comparações entre as taxas percentuais de imunoglobulinas aqui obtidas e as registradas por outros autores devem ser feitas cautelosamente: variações nos valores de proteínas totais ocorrem, tanto em função da via de colheita do

LCR como da metodologia usada na sua quantificação, alterando pois os valores percentuais da imunoglobulina<sup>40,72</sup>. Na tabela 11 acham-se apenas os resultados percentuais obtidos por Livramento<sup>40</sup>, que, na literatura consultada, foi o único autor a registrar valores de IgG/proteínas totais e IgA/proteínas totais do LCR-SO, os obtidos por alguns pesquisadores estrangeiros<sup>13,38,45,53,67</sup>, que embora utilizando amostras de LCR-L, também dosaram as proteínas totais pelo método de Lowry e col.<sup>41</sup>, e os da presente investigação.

Pela análise da tabela 11, nota-se que o valor percentual médio de IgG obtido na presente investigação, é inferior àquele obtido por Livramento<sup>40</sup>, que no entanto quantificou as proteínas totais por turbidimetria após precipitação das proteínas pelo ácido tricoloracético, método este que fornece valores mais baixos de proteínas que o método colorimétrico aqui utilizado<sup>72</sup>. Por outro lado, a média de IgG, expressa em percentagem, do LCR-SO, aqui observada foi superior àquelas registradas pelos autores estrangeiros, quem sabe devido à via de colheita de LCR por eles utilizada.

A taxa percentual média de IgA aqui calculada é semelhante àquelas registradas pelos autores estrangeiros, embora seja bem menor que a obtida em nosso meio por Livramento<sup>40</sup>, levantando pois a dúvida se os altos valores relativos de IgA obtidos por este autor não seriam, ao menos em parte, função da metodologia aplicada na quantificação de proteínas totais, sendo a via de colheita do LCR fator menos atuante.

A grande variabilidade de valores observada na quantificação de IgM, pela metodologia utilizada, faz com que os resultados obtidos sejam considerados com prudência, permitindo apenas registrar que normalmente esta imunoglobulina acha-se presente no LCR-SO, em níveis muito baixos, não ultrapassando provavelmente 0,25% do total protéico.

As taxas fisiológicas, calculadas através dos intervalos de confiança (95,5%), encontradas no LCR-SO de adultos, pela metodologia apontada são de 0,51 a 4,00 mg/100 ml para IgG e até 0,32 mg/100 ml para IgA, não ultrapassando esta imunoglobulina 0,9% do total protéico.

As taxas percentuais normais de IgG do LCR-SO tanto de adultos como de crianças, com mais de um ano de idade, variam entre 3 a 12%.

#### RESUMO

É apresentada inicialmente revisão de literatura a respeito dos resultados obtidos na determinação das taxas de imunoglobulinas do LCR normal, mediante diferentes métodos, assim como da influência dos fatores cor, sexo e idade, nestes valores.

Mediante imunodifusão radial foram determinados os níveis de IgG, IgA e IgM do LCR normal de 115, 78 e 45 pessoas, respectivamente. Todas as amostras de LCR foram obtidas por punção sub-occipital (LCR-SO).

Os resultados destas determinações permitiram concluir que: *a)* as taxas médias de IgG, IgA e IgM do LCR de pretos ou pardos não diferem daquelas de brancos; *b)* não existem variações ligadas ao sexo, nem à idade, em crianças com 1 a 11 anos, nas taxas das imunoglobulinas estudadas, no LCR; *c)* os níveis fisiológicos em crianças com 1 a 11 anos, para IgG variam entre 0,21 e 2,93 mg/100 ml; os teores absolutos médios de IgG de crianças são inferiores àqueles encontrados em adultos; os níveis percentuais médios de IgG de crianças não diferem daqueles de adultos; *d)* as taxas de IgA do LCR de crianças, tanto em valores absolutos como relativos, são, em média, inferiores àquelas encontradas em adultos, não ultrapassando, em condições normais, 0,15 mg/100 ml (0,7% do total protéico); *e)* em adultos, não se observam variações ligadas ao sexo, nem à idade, nos níveis das imunoglobulinas estudadas, no LCR-SO; as taxas normais de IgG encontradas no LCR-SO de adultos são de 0,51 a 4,00 mg/100 ml; em crianças e adultos, as taxas fisiológicas desta imunoglobulina, em termos percentuais, são de 3 a 12%; o LCR-SO normal de adultos contém IgA em concentrações de até 0,32 mg/100 ml (0,9% do total protéico); *f)* a IgM encontra-se no LCR-SO normal, tanto de crianças como de adultos, em níveis muito baixos, não ultrapassando 0,2 mg/100 ml (0,25% do total protéico).

#### SUMMARY

*Cerebrospinal fluid proteins: III. Immunoglobulins G, A and M normal values (variations related to race, sex and age).*

The literature on quantitation of immunoglobulins in normal CSF and variations of these values related to race, sex and age was reviewed. Immunoglobulins (Ig) G, A and M of normal CSF (sub-occipital puncture) of 116, 78 and 45 patients respectively, were measured by radial immunodiffusion, in order to verify variations related to race, sex and age, as well as to establish their normal limits.

The results allowed us to conclude that: *a)* there are no differences between races with respect to the levels of IgG, A and M; *b)* variations related to sex or age on the CFS immunoglobulins content in children (1 to 11 years old) are not found; *c)* the mean IgG (mg/100 ml) level in children is lower than in adults, although the mean IgG percentage concentration in children is not different from that found in adults; the normal range for CSF IgG in children is 0.21 to 2.93 mg/100 ml; *d)* the mean IgA content (mg/100 ml and % of the total protein) in children are lower than in adults and in physiological conditions do not exceed 0.15 mg/100 ml (0.7% of the total protein); *e)* there are no differences related to sex or age with respect to the CSF levels of immunoglobulins in adults; the normal range of IgG in adults is 0.51 to 4.00 mg/100 ml; in children and adults the normal limits for the relative values of IgG are 3 to 12%; IgA is found in the CFS of adults in a concentration up to 0.32 mg/100 ml (0.9%); *f)* IgM is found in both children's and adults' CSF at very low levels, not exceeding 0.2 mg/100 ml (0.25%).

Comparison of the results obtained in this work with those found in some publications was carried out and is briefly discussed.

## REFERENCIAS

1. AHONEN, A.; MYLLYLÄ, V. V. & HOKKANEN, E. — Measurement of reference values for certain proteins in cerebrospinal fluid. *Acta neurol. scand.* 57:358, 1978.
2. AHONEN, A.; MYLLYLÄ, V. V. & HOKKANEN, E. — Cerebrospinal fluid protein findings in various lower back pain syndromes. *Acta neurol. scand.* 60:93, 1979.
3. BERNHARDT, W.; WEISNER, B. & REHPENNING, W. — Liquorbefund und Lebensalter. Trivariate Wertung der Konzentrationen von Albumin und Immunglobulin G. *J. clin. Chem. clin. Biochem.* 16:435, 1978.
4. BESSET, A.; DESLANDES, A. & MOURAY, H. — Dosage simultané des IgG et de l'albumine dans le liquide céphalo-rachidien. *Ann. Biol. clin.* 32:507, 1974.
5. BOCK, E. — Quantitation of plasma proteins in cerebrospinal fluid. *Scand. J. Immunol.* 2 (Suppl. 1):111, 1973.
6. BOCK, E.; KRISTENSEN, V. & RAFAELSEN, O. J. — Proteins in serum and cerebrospinal fluid in demented patients. *Acta neurol. scand.* 50:91, 1974.
7. BUCHANAM, N. & MACNAB, G. — Cerebrospinal fluid complement and immunoglobulins in meningitis and encephalitis. *S. Afr. med. J.* 46:1376, 1972.
8. CLAUSEN, J.; FOG, T. & EINSTEIN, E. R. — The clinical value of assaying proteins in the cerebrospinal fluid. *Acta neurol. scand.* 45:513, 1969.
9. DELANK, H. W. & WREDE, M. T. — Der Klinische Wert quantitativ immunochemischer Bestimmungen verschiedener Proteine im Liquor cerebrospinalis. *Klin. Wschr.* 47:1270, 1969.
10. DELPECH, B. & ROUSSEAU, P. Y. — Dosage par immuno-diffusion radiale simple des  $\gamma$  G globulines et de la sidérophiline du liquide céphalo-rachidien normal. *Rev. franc. Étud. Clin. biol.* 14:694, 1969.
11. DENCKER, S. J. — Quantification of individual CSF proteins by immune precipitation in agar gel. *J. Neurochem.* 16:465, 1969.
12. DENCKER, S. J. — Quantification of individual proteins by immuno-diffusion. *Acta neurol. scand.* 46 (Suppl. 48):238, 1970.
13. EICKHOFF, K.; KASCHKA, W.; SKVARIL, L.; THEILKAES, L. & HEIPERTZ, R. — Determination of IgG subgroups in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients and others. *Acta neurol. scand.* 60:277, 1979.
14. FAHEY, J. L. & MCKELVEY, E. M. — Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody agar plates. *J. Immunol.* 94:84, 1965.
15. FIOCCA, S. — Esame del liquido cefalo-rachidiano. *Ann. Sclavo.* 19:844, 1977.
16. FISCHER-WILLIAMS, M. & ROBERTS, R. C. — Cerebrospinal fluid proteins and serum immunoglobulins. *Arch. Neurol. (Chic.)* 25:526, 1971.
17. GANROT, K. & LAURELL, C. B. — Measurement of IgG and albumin content of cerebrospinal fluid, and its interpretation. *Clin. Chem.* 20:571, 1974.
18. GANROT-NORLIN, K. — Relative concentration of albumin and IgG in cerebrospinal fluid in health and in acute meningitis. *Scand. J. infect. Dis.* 10:57, 1978.
19. GLOSNER, H. & WENIG, C. — Zur Pathophysiologie der Liquorimmunglobuline. *Klin. Wschr.* 51:806, 1973.
20. GOODMAN, M. & VULPE, M. — A quantitative immunochemical method for determining serum and cerebrospinal fluid proteins. *Wld. Neurol.* 2:589, 1961.
21. GOTTESLEBEN, A. & BAUER, H. J. — Quantitative immunochemistry of cerebrospinal fluid proteins in inflammatory diseases of the nervous system. *Germ. med. Mth.* 12:331, 1967.
22. HARMS, D. — Comparative quantitation of immunoglobulin G (IgG) in cerebrospinal fluid and serum of children. *Europ. Neurol.* 13:54, 1975.
23. HARTLEY, T. F.; MERRIL, M. A. & CLAMAN, H. N. — Quantitation of immunoglobulins in cerebrospinal fluid. *Arch. Neurol. (Chic.)* 15:472, 1966.
24. HAYASHI, H.; LOGRIPPO, G. A. & PERRY, M. — Immunoglobulin levels in spinal fluid and saliva by direct immunochemical assay and microscopic measurements. *Henry Ford Hosp. Med. J.* 18:263, 1970.
25. HIRSH-MARIE, H. — Mesure directe des immunoglobulines de faible concentration par la méthode de Laurell. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* 52:631, 1970.

26. KABAT, E. A.; GLUSMAN, M. & KNAUB, V. — Quantitative estimation of the albumin and gamma globulin in normal and pathological cerebrospinal fluid by immunochemical methods. *Amer. J. Med.* 4:653, 1948.
27. KARITZKY, D. — Die quantitative Bestimmung einzelner Liquorproteine in der Diagnostik entzündlicher ZNS — Erkrankungen im Kindesalter. *Europ. J. Pediat.* 121:51, 1975.
28. KILLINGSWORTH, L. M. & SAVORY, J. — Automated immunochemical procedures for measurement of immunoglobulins IgG, IgA and IgM in human serum. *Clin Chem.* 17:936, 1971.
29. KRAUSE, H. D. & WISSER, H. — Normalbereich des Gesamteiweisses und der Eiweissfraktionen des Liquor cerebrospinalis bei Kindern. *Z. Klin. Chem.* 13:137, 1975.
30. LAFFIN, R. J. — A simple immunological method for the quantitation of immunoglobulin G in human cerebrospinal fluid. *J. Lab. clin. Med.* 76:816, 1970.
31. LAMOUREUX, G.; JOLICOEUR, R.; GIARN, N.; ST. HILAIRE, M. & DUPLANTIS, F. — Cerebrospinal fluid proteins in multiple sclerosis. *Neurology* 25:537, 1975.
32. LATERRE, E. C. & HEULLE, H. — Resultats comparés de l'électrophorèses en agar et du dosage immunochemique des gammaglobulines du liquide céphalo — rachidien dans la sclérose en plaques. *Acta. neurol. belg.* 72:240, 1972.
33. LAURELL, C. B. — Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Analyt. biochem.* 15:45, 1966.
34. LEVIN, A. S.; FUDENBERG, H. H.; PETZ, L. D. & SHARP, G. C. — IgG levels in cerebrospinal fluid of patients with central nervous system manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin. Immunol. Immunopath.* 1:1, 1972.
35. LEVIN, A. S.; PIPKINS, M. O. & FUDENBERG, H. H. — A rapid radioimmunoassay for measuring nanogram levels of antigens. *Vox Sang. (Basel).* 18:459, 1970.
36. LIAPPIS, N. & JÄKEL, A. — Normalbereich der mittels radialer Immundiffusion bestimmten Albumin — und IgG — Konzentration im Liquor cerebrospinalis. *Klin. Pädiat.* 188:267, 1976.
37. LINK, H. — Immunoglobulin abnormalities in multiple sclerosis. *Ann. Clin. Res.* 5:330, 1973.
38. LINK, H. & MÜLLER, R. — Immunoglobulins in multiple sclerosis and infections of the nervous system. *Arch. Neurol. (Chic.).* 25:326, 1971.
39. LINK, H.; PANELIUS, M. & SALMI, A. A. — Immunoglobulins and measles antibodies in subacute sclerosing panencephalitis. *Arch. Neurol. (Chic.).* 28:23, 1973.
40. LIVRAMENTO, J. A. — Imunoglobulinas do líquido cefalorraqueano normal. São Paulo, 1978 (Dissert. Mestr. — Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo).
41. 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.
42. MANCINI, G. M.; CARBONARA, A. O. & HEREMANS, J. F. — Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochem.* 2:235, 1965.
43. MENONNA, J.; GALANTOWICZ, D.; DOWLING, P. & COOK, S. — Rapid fluorometric assay for cerebrospinal fluid immunoglobulin G. *Neurology.* 27:481, 1977.
44. MIETENS, C. & QUARCOO, H. — Immunoglobulin — Konzentration im Liquor bei Kindern. Untersuchungen zur Altersabhängigkeit und zu Veränderungen bei entzündlichen Erkrankungen des ZNS. *Klin. Pädiat.* 189:151, 1977.
45. MINGIOLI, E. S.; STROBER, W.; TOURTELLOTTE, W. W.; WHITAKER, J. N. & McFARLIN, D. E. — Quantitation of IgG, IgA and IgM in the CSF by radioimmunoassay. *Neurology.* 28:991, 1978.
46. MONARI, M.; CALVEZ, S. & FARCAS, A. — Cerebrospinal fluid and serum immunoglobulins and C<sub>3</sub> levels in 30 intracranial tumors. *Neurocirurgia (Santiago).* 36:75, 1978.
47. MORA, F.; QUESADA, T.; PENA, J.; OSORIO, C. & SHAW, S. G. — An immunological study of nine proteins in CSF and serum of a group of epileptic patients. *Clin. chim. Acta.* 30:55, 1977.
48. NELLHAUS, G. — Cerebrospinal fluid immunoglobulins G in childhood. *Arch. Neurol. (Chic.)* 24:441, 1971.

49. NERENBERG, S. T. & PRASAD, R. — Radioimmunoassay for Ig classes G,A, M,D and E in spinal fluids: normal values of different age group. *J. Lab. clin. Med.* 86:887, 1975.
50. NERENBERG, S. T.; PRASAD, R. & ROTHMAN, M. E. — Cerebrospinal fluid IgG, IgA, IgM, IgD, and IgE levels in central nervous system disorders. *Neurology* 28:988, 1978.
51. OLSSON, J. E. & PETERSON, B. — A comparison between agar gel electrophoresis and CSF serum quotients of IgG and albumin in neurological diseases. *Acta neurol. Scand.* 53:308, 1976.
52. OUDIN, J. — Méthode d'analyse immunochimique par précipitation spécifique en milieu gélifié. *C. R. Acad. Sci (D) (Paris)*. 222:115, 1946.
53. PALTRINIERI, E. — La concentrazione delle immunoglobuline A nel liquido cerebrospinale del soggetto normale. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* 44:1064, 1968.
54. RITCHIE, R. F. — A simple, direct and sensitive technique for measurement of specific protein in dilute solution. *Lab. clin. Med.* 70:512, 1967.
55. SAVORY, J. & HEINTGES, M. G. — Cerebrospinal fluid levels of IgG, IgA and IgM in neurologic diseases. *Neurology* 23:953, 1973.
56. SCHLIEP, G.; RAPIC, N. & FELGENHAUER, K. — Quantitation of high — molecular proteins in cerebrospinal fluid. *Z. Klin. chem.* 12:367, 1974.
57. SCHULLER, E. — Les méthodes actuelles d'étude des protéines du liquide céphalo-rachidien. *Rev. Prat. (Paris)*. 26:1675, 1976.
58. SCHULLER, E.; ALLINQUANT, B.; GARCIA, M.; LEFÈVRE, M.; MORENO, P. & TOMPE, L. — Electroimmunodiffusion des protéines du liquide céphalo-rachidien. Dosage de l' $\alpha_2$  — HS, de la céruloplasmine, de la  $\beta_{1A}/\beta_{1C}$  de l'hémopexine et de l'IgA. *Clin. chim. Acta.* 33:5, 1971.
59. SHARPLESS, N. S. & LoGRIPPO, G. A. — A standardized immunochemical method for quantitative determination of the immunoglobulins in serum. *Henry Ford Hosp. med. Bull.* 13:55, 1965.
60. SIBLEY, W. A. & WURZ, L. — Immunoassay of cerebrospinal fluid gamma-globulin. *Arch. Neurol. (Chic.)*. 9:386, 1963.
61. SIMMONS, P. — Quantitation of plasma proteins in low concentrations using RID. *Clin. chim. Acta.* 35:53, 1971.
62. SMITH, H.; BANNISTER, B. & O'SHEA, M. J. — Cerebrospinal fluid immunoglobulins in meningitis. *Lancet* 2:591, 1973.
63. STITES, D. P. — Clinical laboratory methods for detection of antigens & antibodies. In: FUDENBERG, H. H.; STITES, D. P.; CANDWELL, J. L. & WELLS, J. V. — Basic & clinical immunology, 2ª ed., Los Altos (California), Lange Medical Publ., 1978, p. 337.
64. TAKASE, S. & YOSHIDA, M. — Quantitative determination of immunoglobulins in cerebrospinal fluid. *Tohoku J. exp. Med.* 98:189, 1969.
65. TAKEI, K.; FERRI, R. G.; CALICH, V. L. G.; MELO, E. & SILVA, M. L. R. — Quantificação de imunoglobulinas. Determinação da faixa de normalidade. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*. 15:399, 1973.
66. TAVOLATO, B. & DeZANCHE, L. — Determinazione immunochimica della immunoglobulina G (IgG) nel liquor. *Riv. sper. Freniatr.* 93:781, 1969.
67. TIBBLING, G.; LINK, H. & ÖHMAN, S. — Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders. I. Establishment of reference values. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 37:385, 1977.
68. TOURTELLOTTE, W. W. — Cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. In: VINKEN, P. J. & BRUYN, L. G. W. Eds. — Handbook of clinical neurology. Amsterdam, North Holland, 1970. v.9 p. 324.
69. TOURTELLOTTE, W. W. — On cerebrospinal fluid immunoglobulin G (IgG) quotients in multiple sclerosis and other diseases. *J. neurol. Sci.* 10:279, 1970.
70. TOURTELLOTTE, W. W. & PARKER, J. A. — Multiple sclerosis: correlation between immunoglobulin G in cerebrospinal fluid and brain. *Science* 154:1044, 1966.



71. TOURTELLOTTE, W. W.; TAVOLATO, B. A.; PARKER, J. A. & COMISO, P. — Cerebrospinal fluid electroimmunodiffusion. An easy, rapid, sensitive, reliable and valid method for the simultaneous determination of immunoglobulin-G and albumin. *Arch. Neurol. (Chic.)*. 25:345, 1971.
72. VERMES, L. M. S. — Proteínas 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).
73. VERMES, L. M. S. — Proteínas do líquido cefalorraqueano. II. Valores normais das frações protéicas obtidas por eletroforese (variações ligadas à cor, sexo e idade). *Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo)* 41:9, 1983. (Dissert. Mestr. — Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo).
74. WEISNER, B. — Gleichzeitige Bestimmung von Immunglobuline G und Albumin in Ventrikelliquor und serum. *Nervenarzt* 48:684, 1977.
75. WEISNER, B. & BERNHARDT, W. — Protein fractions of lumbar, sisternal and ventricular cerebrospinal fluid. *J. neurol. Sci.* 37:205, 1978.
76. WEISNER, B.; SCHNEDLER, R. & BERNHARDT, W. — Immunglobuline A, G und M in lumbal entnommenem Liquor cerebrospinalis. *Nervenarzt* 46:532, 1975.
77. YABUKI, S. — Quantitation of immunoglobulin G (IgG) by radial immunodiffusion method. *Clin. Neurol. (Tokio)*. 12:126, 1972. Apud *Excerpta Medica: Neurology & Neurosurgery*, 30, p. 587, ref. 3115, 1974.

*Departamento de Microbiologia e Imunologia — Instituto de Ciências Biomédicas -  
Universidade de São Paulo — Caixa Postal 2921 — 01000 São Paulo, SP — Brasil.*