

Conteúdo protéico do humor aquoso no glaucoma congênito primário

Protein content analysis of the aqueous humor in congenital glaucoma

Walter Gomes Amorim Filho ⁽¹⁾

José Belmiro de Castro Moreira ⁽²⁾

Paulo Augusto de Arruda Mello ⁽³⁾

Márcia Beatriz Tartarella ⁽⁴⁾

RESUMO

O conteúdo protéico do humor aquoso de 20 pacientes portadores de Glaucoma Congênito Primário e 18 de Catarata Congênita foi submetido a análise quantitativa e qualitativa. O humor-aquoso foi coletado através de paracentese em pré-operatório imediato.

A concentração total das proteínas do humor aquoso de todos os pacientes, foi avaliada pelo método de BRADFORD e mostrou que o conteúdo protéico total é maior nos pacientes com Glaucoma Congênito Primário quando comparado aos pacientes com Catarata Congênita, sendo a diferença, estatisticamente significativa.

À análise qualitativa foi realizada pela Unidade Automatizada - Phast System, utilizando-se gel SDS-PAGE com gradiente 8 - 25%, corado pela prata. Todas as placas de gel revelaram a presença bem marcante da proteína de 67 KD (Albumina). Outras proteínas, de alto e baixo peso molecular foram reveladas, com incidência estatisticamente não significativa.

Palavras-chave: Humor aquoso; Glaucoma congênito

INTRODUÇÃO

O termo Glaucoma Congênito Primário refere-se somente a olhos com alteração na malha trabecular, sem outras anomalias ou doenças oculares. O termo Glaucoma do Desenvolvimento refere-se a todos os tipos de Glaucomas associados com anomalias presentes no nascimento, abrangendo o glaucoma Congênito Primário e os Glaucomas associados a outras anomalias do desenvolvimento, oculares ou sistêmicas ¹.

A trabeculodisgenesia manifesta-se com a íris inserida anterior ou posteriormente ao esporão escleral, sendo a inserção anterior a mais freqüente, em que a superfície da malha trabecular, apresenta-se visível e com aspecto

poroso. Danos estruturais ao globo ocular, são conseqüências do aumento da pressão intra-ocular. Anomalias histológicas foram encontradas no exame da malha trabecular, com espessamento de suas estruturas e do tecido conectivo justacanalicular, comprimindo os espaços inter-trabeculares, dificultando a drenagem do humor aquoso da câmara anterior ^{2, 3}.

O conhecimento da relação entre o nível da pressão intra-ocular e as velocidades de formação e drenagem do humor aquoso, despertou o interesse em se estudar a sua dinâmica de formação e o seu conteúdo, que por ser um ultra-filtrado plasmático, tem em sua composição, proteínas que têm sido investigadas intensamente, por sua possível atuação e envolvimento

Departamento de Oftalmologia da UNIFESP-EPM

⁽¹⁾ Setor de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da UNIFESP-EPM.

⁽²⁾ Professor Doutor, orientador da pós-graduação do Departamento de Oftalmologia da UNIFESP-EPM.

⁽³⁾ Professor Doutor, Adjunto, orientador da pós-graduação, chefe do setor de Glaucoma do Departamento de Oftalmologia da UNIFESP-EPM.

⁽⁴⁾ Setor de Catarata Congênita do Departamento de Oftalmologia da UNIFESP-EPM.

Endereço para correspondência: Walter Gomes Amorim Filho - R. Pedro de Toledo, 2013 - CEP 04039-034 - São Paulo - SP

no processo de aumento da pressão intra-ocular, assim como, por sua possível utilidade na avaliação da integridade da barreira hêmato-aquosa ^{4, 5}.

Presentes no humor aquoso, as proteínas se originam de filtrado plasmático e não de síntese durante o processo de produção, sendo que a diferença na concentração protéica e peso molecular entre o humor aquoso e sangue, indica que existe uma barreira seletiva de penetração do lado sangüíneo para o lado aquoso dos processos ciliares ⁶.

O conteúdo protéico do humor aquoso em portadores de glaucoma tem sido avaliado em amostras coletadas em pré-operatório imediato de pacientes adultos, portadores de glaucoma primário de ângulo aberto ⁵, em síndrome de exfoliação ⁷, sendo utilizado na análise comparativa, o humor-aquoso de portadores de catarata senil, devido a impossibilidade de obtermos amostras de humor aquoso normal.

Na literatura compulsada, não encontramos publicações referentes ao conteúdo do humor aquoso em portadores de glaucomas do desenvolvimento e em portadores de catarata congênita.

O objetivo do presente estudo foi analisar quantitativa e qualitativamente, o conteúdo protéico do humor aquoso de portadores de glaucoma congênito primário comparado com portadores de catarata congênita.

PACIENTES, MATERIAIS E MÉTODOS

Foi estudado o humor aquoso de 20 pacientes com glaucoma congênito primário (Grupo I) e 18 com catarata congênita (Grupo II), tendo como critérios de exclusão o tratamento clínico com colírios hipotensores oculares e cirurgia ocular prévia.

A coleta do humor aquoso foi realizada no pré-operatório imediato e sob anestesia geral, em todos os pacientes de ambos os grupos estudados. A

paracentese foi realizada em plano paralelo à superfície da íris aspirando-se 50µl a 100 µl de humor aquoso, sendo imediatamente transferido para um tubo de armazenamento (tubo de Eppendorf) que continha solução anti-degradante protéico e preservado em congelador (-20°C) para posterior análise.

O conteúdo protéico total foi determinado de acordo com o método proposto por BRADFORD, utilizando-se o leitor de densidade óptica modelo MCC/340P versão 2.3 TITERTEK MULTISKAN (Labsystems - Uppsala).

A análise quantitativa das proteínas foi realizada através de eletroforese em placas de gel de poliácridamida (PAGE), com gradiente contínuo de 8 a 25% e zona de "crosslinking" de 2% - PhastGel, em unidade automatizada de eletroforese e revelação - PhastSystem (Pharmacia Biotechnology AB-Uppsala).

RESULTADOS

A média do conteúdo protéico total dos pacientes do Grupo I foi 74,80 mg% e dos pacientes do Grupo II 27,63 mg%. A análise comparativa das concentrações médias totais das proteínas entre os dois grupos de estudo, é demonstrada na tabela 1, assim como os respectivos valores da média e desvio padrão. A análise estatística demonstrou haver diferença significativa entre esses valores, a 5% (p<0,05).

Na análise qualitativa, observamos a presença da proteína com peso mole-

TABELA 1

Análise comparativa das concentrações protéicas totais, em mg%, no humor aquoso de portadores de glaucoma congênito primário (grupo I) e nos portadores de catarata congênita (grupo II)

Grupo I			Grupo II			Significância
N	M	DP	N	M	DP	
20	74,80	8,70	18	27,63	5,66	S

N: Número de pacientes; T: Teste "t" de Student para amostras independentes; S: Significante (p<0,05); M: Média; DP: Desvio padrão

TABELA 2

Análise comparativa da ocorrência das proteínas encontradas no humor aquoso de portadores de glaucoma congênito primário (grupo I) e catarata congênita (grupo II).

PM (KD)	Grupo I (N = 20)		Grupo II (N = 18)		Teste de significância
	N	(%)	N	(%)	
14,4	0	(0)	0	(0)	-
20	1	(5)	2	(11,1)	NS
30	3	(15)	2	(11,1)	NS
43	2	(10)	3	(16,6)	NS
67	20	(100)	18	(100)	-
94	6	(30)	2	(11,1)	NS
140	3	(15)	0	(0)	NS
232	4	(20)	0	(0)	NS
440	0	(0)	0	(0)	NS
669	0	(0)	0	(0)	NS

PM: Peso molecular; KD: Quilodaltons; N: Número de pacientes; N°: Número de amostras; (%): Porcentagens; x²: qui-quadrado; Fisher: Teste exato de Fisher (p<0,05); NS: Não significante

cular de 67 KD, que é compatível com a albumina, em todas as amostras de ambos os grupos estudados. Outras proteínas foram observadas esporadicamente nas amostras de ambos os grupos, podendo ser verificadas na tabela 2, apresentando pequena incidência em ambos os grupos estudados e análise comparativa estatisticamente não significante.

DISCUSSÃO

Neste estudo, em ambos os grupos avaliados, crianças com média de idade semelhantes, foram analisadas em relação ao conteúdo protéico do humor aquoso. Na literatura pesquisada não se encontrou trabalhos publicados sobre o estudo do conteúdo do humor aquoso em glaucomas do desenvolvimento. A técnica utilizada para a obtenção do humor aquoso através da paracentese pré-operatória, foi padronizada para que os efeitos da pressão exercida pelo material de punção, sobre os tecidos oculares, fosse o mínimo possível traumatizante.

Após a obtenção e armazenamento do humor aquoso realizou-se a análise quantitativa das proteínas pelo método

de BRADFORD, que, segundo a literatura, é o método mais adequado para a dosagem protéica em pequenos volumes e pequenas concentrações⁸.

Os pacientes com catarata congênita apresentaram conteúdo protéico total semelhante aos vários trabalhos da literatura, no entanto, os pacientes com glaucoma congênito primário apresentaram conteúdo bem maior do que a média na literatura para pacientes adultos, sendo significativa a diferença quando comparamos glaucoma congênito primário e catarata congênita.

Existem vários métodos de análise qualitativa das proteínas, sendo o de eletroforese em placas de gel de poliacrilamida aqui utilizado, para a separação das proteínas do humor aquoso, o mais sensível e indicado.

A proteína de 67 KD (albumina), foi identificada em todos os pacientes de ambos os grupos, havendo uma tendência à presença de proteínas com peso molecular superior à albumina no grupo com glaucoma congênito primário, quando comparadas aos pacientes com catarata congênita.

A presença das proteínas de alto peso molecular e a maior concentração protéica total nos pacientes portadores de glaucoma congênito primário, poderia significar alteração no processo de síntese do humor aquoso, com comprometimento da barreira hêmato-aquosa, que estaria permitindo passagem de maior quantidade de proteínas e proteínas de alto peso molecular para o interior da câmara anterior, alte-

rando a composição protéica média considerada normal.

Se o aumento do conteúdo protéico na câmara anterior é conseqüente a defeito primário da barreira hêmato-aquosa, levando a síntese inadequada de humor aquoso pelos processos ciliares, ou se o próprio aumento da pressão intra-ocular, secundário à trabeculodisgenesia, esteja provocando a quebra da barreira hêmato-aquosa e o conseqüente aumento do conteúdo protéico total na câmara anterior ou se simplesmente o acúmulo de proteínas ocorre pela drenagem insuficiente do humor aquoso, são dúvidas que poderão ser esclarecidas com posteriores estudos.

SUMMARY

Quantitative and qualitative analysis of the protein content of the aqueous humor from 20 primary congenital glaucoma and 18 congenital cataract individuals was performed. Their aqueous humor was obtained during required surgical treatment. Bradford Method showed that the mean concentration of total protein content in the aqueous humor of patients with primary congenital glaucoma, was greater and statistically significant than the patients with congenital cataract. Qualitative analysis was performed with Phast System Unit and consisted of SDS - PAGE 8 - 25% gradient

and silver staining. All gels revealed the presence of one well defined 67 KD protein band (Albumin). High and low molecular weight proteins bands, were revealed and the statistical analysis was no significant.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DICKENS, C. J. & HOSKINS Jr., H. D. - Epidemiology and pathophysiology of congenital glaucoma In: RITCH-SHIELDS-KRUPIN'S. *The glaucomas* - St. Louis, C.V. Mosby Comp., 1989, p. 761-772.
2. HOSKINS, H. D.; SHAFFER, R. N.; HETHERINGTON, J. - Anatomical classification of the development glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* **102**:1331-1337, 1984.
3. ANDERSON, D. R. - The development of the trabecular meshwork and its abnormality in primary infantile glaucoma. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, **79**:458-464, 1981.
4. MORRISON, J. C.; VAN BUSKIRK, E. M.; FRESSO, T. F. - Anatomy, microcirculations, and ultrastructure of the ciliary body. In: RITCH, S., SHIELDS, KRUPIN - *The Glaucomas*. St. Louis, C. V. Mosby Company, 1989, p.75-88.
5. ALMEIDA, G. V. - Conteúdo protéico do humor aquoso de portadores de glaucoma primário de ângulo aberto. *Arq. Bras. Oftal.* **59**:151-155, 1996.
6. TRIPATHI, R. C.; BORISUTH, N. S.; TRIPATHI, B. J.; GOTSIS, S. S. - Quantitative and qualitative analyses of transferrin in aqueous humor from patients with primary and secondary glaucomas. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **33**:2866-2873, 1992.
7. COHEN, R.; LOPES, J. D.; GESZTESI, J.; MORAES, J. Z.; ALMEIDA, G. V.; MOREIRA, J. B. C. - Análise quantitativa e qualitativa do conteúdo protéico do humor-aquoso de portadores de Síndrome de Exfoliação. *Arq. Bras. Oftalmol.*, **59**:280-288, 1996.
8. JAMPEL, H. D. - Determination of protein concentration in aqueous humor. *J. Glaucoma*, **3**:5-11, 1994.