

IMUNOGLOBULINAS DO LÍQUIDO CEFALORRAQUEANO NO RECÉM-NASCIDO

*J. A. LIVRAMENTO **
*L. R. MACHADO **
*BÉRTHA R. DA LUZ ***
*A. SPINA-FRANÇA ****

A composição do líquido cefalorraqueano (LCR) do recém-nascido (RN) tem sido objeto de estudo das escolas de pediatria e de neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, visando estabelecer padronização efetiva dos valores normais para essa faixa etária 1-5,10,11,17-19. A imaturidade da barreira hêmato-encefálica (BHE) verificada nesse período de vida é fenômeno fisiológico e pode ser bem observada através do estudo evolutivo de alguns parâmetros do LCR de RN pré-termo e a termo 1,13,15-19. Em nosso meio e até o presente, não há dados que permitam estabelecer padronização da normalidade das concentrações de imunoglobulinas no LCR de RN normais. Estudos sobre certas condições patológicas, como imunodeficiências primárias ou secundárias e processos inflamatórios do sistema nervoso central (SNC) nessa faixa etária, são dificultados por não haver tal padronização da normalidade. Não se encontram devidamente caracterizadas relações entre as imunoglobulinas do LCR e do soro do RN quando se consideram aspectos da imunidade humoral nessa faixa etária.

O objetivo deste estudo é caracterizar o estado da imunidade humoral do RN mediante avaliação comparada das imunoglobulinas do LCR e do soro em uma série de 36 RN com características normais.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas concomitantemente amostras de LCR e de soro de 36 RN no segundo dia de vida e que apresentavam exame neurológico normal. O exame do LCR foi feito sempre por punção lombar, após indicação precisa de neuropediatra. Nas amostras de soro, obtidas por punção venosa, foram primeiramente determinadas a concentração proteica total e as frações proteicas mediante eletroforese. Nas amostras de LCR foi inicialmente realizado: estudo dos índices de xantocromia, bilirrubina e hemoglobina segundo Kronholm; contagem do número de leucócitos e de hemácias em câmara de Fuchs-Rosenthal; determinação do perfil citomorfológico em preparados

Trabalho do Centro de Investigações em Neurologia (CIN) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP): *Médico Assistente do CIN; ** Médica Assistente do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; *** Professor Titular de Neurologia da FMUSP.

obtidos em câmara de sedimentação gravitacional acelerada de Suta corados pelo método de Leishman; determinação das concentrações de proteínas totais, glicose e cloretos; eletroforese de proteínas; reações imunológicas de fixação do complemento para sífilis e cisticercose. As técnicas empregadas foram registradas anteriormente (10,17,19). As amostras de LCR e de soro de cada caso caracterizadas como normais para a faixa etária (2,3,4) foram congeladas a -20°C para posterior estudo das imunoglobulinas.

A determinação de imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM) no soro e no LCR foi feita pela técnica de imunodifusão radial (IDR) e por nefelometria. Para a determinação no soro mediante IDR foram utilizadas placas de procedência Behring: TRI-Partigen para IgG; LC-Partigen para IgA e IgM. Para a determinação por IDR das imunoglobulinas no LCR foram empregadas placas LC-Partigen, também de procedência Behring, segundo técnica adotada em nosso meio (7,8). As determinações de imunoglobulinas no soro e LCR por nefelometria, foram realizadas no Laboratório Biociências Lavoisier por gentileza do Prof. Dr. Aron J. Diamant segundo metodologia já descrita (5,6,14).

RESULTADOS

Os resultados referentes ao soro da dosagem de proteínas totais e eletroforese de proteínas com seus respectivos índices e relações são apresentados na Tabela 1. Na Tabela 2 são apresentados os resultados referentes ao LCR quanto a: índices de xantocromia, de bilirrubina e de hemoglobina; número de leucócitos e de hemácias, perfil citomorfológico; concentrações de cloretos e glicose. No perfil citomorfológico não é registrada a presença de células ependimárias ou de plexos corioides por escaparem ao objeto do estudo. Em todas as amostras foram não-reagentes as reações imunológicas para sífilis e para cisticercose. Os resultados no LCR da dosagem de proteínas totais e da eletroforese de proteínas e respectivas relações são apresentados na Tabela 3.

Estimativas	\bar{x}	s	$\frac{s}{\bar{x}}$	M	m
Proteínas totais (g/dl)	6,2	0,40	0,07	7,2	5,2
Frações proteicas (%):					
albumina	55	6,4	1,1	67	44
globulinas:					
alfa-1	4,6	1,31	0,22	7,3	2,1
alfa-2	7,8	2,24	0,37	11,8	3,3
beta	11,1	2,99	0,50	18,5	6,3
gama	21,5	4,47	0,74	32,5	13,6
Relações:					
gama/proteínas totais	2,2	0,41	0,07	3,3	1,5
gama/albumina	4,1	1,14	0,19	7,4	2,3
beta/proteínas totais	1,1	0,27	0,05	1,8	0,6
beta/albumina	2,1	0,67	0,11	3,8	1,0

Tabela 1 — Soro sanguíneo. Estimativas (\bar{x} , média; s, desvio padrão; $\frac{s}{\bar{x}}$, desvio da média) e valores máximo (M) e mínimo (m) observados de proteínas totais, frações proteicas e suas relações nas amostras estudadas.

Estimativas	\bar{x}	s	$s_{\frac{m}{x}}$	M	m
índice de cor	11	6,0	1,0	30	3
Bilirrubina (c_{μ} mol/l)	22	11,7	1,9	50	7
Hemoglobina (c_{μ} mol/l)	0,4	0,96	0,16	5	0
Cloretos (mg/dl)	686	22,8	3,8	732	654
Glicose (mg/dl)	52	6,5	1,1	63	38
Hemácias por mm ³	125	244,5	40,8	960	0
Leucócitos por mm ³	5,6	4,79	0,80	24	0,7
Perfil citomorfológico (%):					
linfócitos	41	5,9	1,0	53	26
reticulomonócitos	54	5,7	0,9	68	43
neutrófilos	2	2,4	0,4	12	0
plasmócitos	0,4	0,65	0,11	2	0
macrófagos	3	1,2	0,2	6	1

Tabela 2 — Líquido cefalorraqueano. Estimativas (\bar{x} , média; s, desvio padrão; $s_{\frac{m}{x}}$, desvio da média) e valores máximo (M) e mínimo (m) observados das características gerais nas amostras estudadas.

Estimativas	\bar{x}	s	$s_{\frac{m}{x}}$	M	m
Proteínas totais (mg/dl)	84	23,6	3,9	132	44
Frações proteicas (%):					
pré-albumina	3,7	1,97	0,33	7,8	1,3
albumina	66	6,5	1,1	75	48
globulinas:					
alfa-1	3,7	1,21	0,20	6,6	1,6
alfa-2	5,3	1,31	0,22	8,3	2,9
beta	7,4	1,82	0,30	13,0	4,7
tau	3,2	1,51	0,25	6,7	0
gama	10,9	2,32	0,39	15,0	6,5
Relações:					
gama/proteínas totais	1,1	0,23	0,04	1,5	0,7
gama/albumina	1,7	0,46	0,08	2,8	0,9
gama/pré-albumina + albumina	1,6	0,39	0,07	2,4	0,9
beta + tau/proteínas totais	1,1	0,30	0,05	2,0	0,6
beta + tau/albumina	1,7	0,66	0,11	4,1	0,9
beta + tau/pré-albumina + albumina	1,6	0,57	0,10	3,6	0,8

Tabela 3 — Líquido cefalorraqueano. Estimativas (\bar{x} , média; s, desvio padrão; $s_{\frac{m}{x}}$, desvio da média) e valores máximo (M) e mínimo (m) observados de proteínas totais, frações proteicas e suas relações nas amostras estudadas.

Os resultados referentes ao estudo das imunoglobulinas do soro e LCR tanto pelo método de IDR como por nefelometria, com as respectivas relações e o índice de IgG são apresentados na Tabela 4. As imunoglobulinas A e M não foram detectadas no LCR mediante os dois métodos utilizados.

Estimativas	\bar{x}	s	$\frac{s}{\bar{x}}$	M	m
Soro sanguíneo:					
Imunodifusão radial					
IgG	1346	299,1	49,8	2000	775
IgA	1,1	1,06	0,18	4,6	0
IgM	10,4	2,26	0,38	13,5	8,7
Nefelometria					
IgG	1372	319,7	53,28	2060	687
IgA	1,5	0,31	0,05	2,3	1,0
IgM	10,6	4,10	0,69	24,2	5,0
Líquido cefalorraqueano:					
IgG (imunodifusão radial)	11,1	2,52	0,42	13,8	6,0
IgG (nefelometria)	9,6	7,04	1,27	32,6	2,2
Relações:					
IgG/proteínas totais	1,4	0,24	0,04	2,1	1,0
IgG/pré-albumina + albumina	1,9	0,36	0,06	2,8	1,4
Índice de IgG	0,5	0,14	0,02	0,9	0,3

Tabela 4 — *Imunoglobulinas no soro e no líquido cefalorraqueano. Estimativas (\bar{x} , média; s, desvio padrão; $\frac{s}{\bar{x}}$, desvio da média), valores máximo (M) e mínimo (m) observados, relações e o índice IgG nas amostras estudadas.*

COMENTARIOS

O estudo do LCR em uma série de amostras com características normais encontra grande dificuldade devido à natureza do exame em si, que resulta de indicações precisas. Para a seleção de 36 amostras de soro e LCR de RN que foram submetidos a punção com indicações clínicas precisas foi necessário compará-las aos padrões de normalidade já estabelecidos adequadamente em nosso meio^{10-13,15}. Houve obrigatoriedade de realizar primeiro o estudo no soro do proteinograma e das imunoglobulinas IgG, IgA e IgM (Tabelas 1 e 4) para caracterizar a respectiva normalidade. Posteriormente, para o LCR, houve também obrigatoriedade de primeiro realizar seu exame básico para verificar se as medidas dos índices de xantocromia, de bilirrubina e de hemoglobina e se os parâmetros do dual citoproteico se encontravam dentro dos limites da normalidade. Comparando-se os resultados obtidos com os de Luz^{10,11,15}, verifica-se que todas as amostras estudadas encontravam-se dentro dos limites da normalidade. Deve ser enfatizado que todos os parâmetros estudados — índices de xantocromia, de bilirrubina, de hemoglobina, número de leucócitos e hemácias por mm³, contagem específica de tipos celulares, dosagem de cloretos e glicose, proteinorraquia e proteinograma (Tabelas 2 e 3) — enquadram-se como próprios a amostras de LCR de RN normais. É de notar que a diferença encontrada para os estudos da xantocromia (índices de cor ou de xantocromia, de bilirrubina e de hemoglobina) são devidos ao fato de Luz ter utilizado unidades expressas de modo diverso (micromol/l)¹⁰.

O estudo das imunoglobulinas no soro e LCR dessas amostras caracterizadas como normais foi realizado por dois métodos distintos: o de imunodifusão radial

e o da nefelometria. Para o soro o estudo das imunoglobulinas (Tabela 4) não apresentou diferenças significativas entre os dois métodos. Os valores (média \pm desvio padrão) encontrados pelo método de imunodifusão radial foram (mg/dl): IgG $1346 \pm 299,1$; IgM $10,4 \pm 2,26$; IgA $1,1 \pm 1,06$; pelo método de nefelometria os valores foram IgG $1372 \pm 319,7$; IgM $10,6 \pm 4,10$; IgA $1,5 \pm 0,31$. Comparando-se os resultados obtidos com estudos realizados em nosso meio, como o de Naspitz e col.¹² em uma série de 30 crianças de 0-30 dias de idade, verifica-se como única diferença a detecção de valores para IgA, embora muito baixos. Este fato pode ser explicado pelo uso de placas de imunodifusão radial de baixa concentração utilizadas neste estudo e ao emprego do método da nefelometria, que apresenta maior sensibilidade. Assim, podem ser caracterizados como normais os valores obtidos para as imunoglobulinas do soro nesta série estudada.

Para o LCR normal não existem dados sobre imunoglobulinas publicados até o presente para esta faixa etária. Assim sendo, teve-se também o cuidado de caracterizar o proteinograma do LCR das amostras como estando dentro dos limites da normalidade especialmente no que tange à albumina e às globulinas gama, em função do que já foi estabelecido para o meio¹⁵. Nas 36 amostras de LCR estudadas pelos dois métodos utilizados, não foi possível detectar a presença de IgA e IgM. A IgG foi a única imunoglobulina encontrada (Tabela 4). Pelos dois métodos utilizados representa a IgG cerca de 12% da proteinorraquia total encontrada na amostra. Os valores (média \pm desvio padrão) encontrados para a IgG foram (mg/dl) $11,1 \pm 2,52$ pelo método de IDR e $9,6 \pm 7,04$ pelo método da nefelometria. A diferença observada pode ser devida a variações inerentes à própria metodologia em si.

O estudo das relações e do índice de imunoglobulinas IgG do LCR visam caracterizar seus limites de normalidade e permitem avaliar eventual possibilidade de síntese ou imunoliberação dessas imunoglobulinas no sistema LCR^{7,8}. Esta síntese ou imunoliberação para ser observada depende da caracterização do estado funcional da BHE, dadas as suas alterações em diversas afecções do SNC, fator este que é praticamente excluído quando as relações e o índice de IgG são estudados adequadamente⁸. Os dados referentes à série estudada permitem caracterizá-los de modo adequado no RN normal (Tabela 4). Salienta-se como o mais fidedigno o índice de IgG, cujo valor nesta série (média \pm desvio padrão) foi $0,5 \pm 0,14$. Assim sendo, valores deste índice acima da unidade (1) seguramente são sugestivos de patologia em que haja imunoliberação de IgG no sistema LCR.

O RN, que se encontra em situação especial de acordo com o grau de maturação da BHE e do SNC, apresenta também características próprias para as imunoglobulinas do sistema LCR, como foi observado no estudo deste material.

RESUMO

Foram estudadas as imunoglobulinas IgG, IgA e IgM no soro e no LCR de 36 recém-nascidos no segundo dia de vida. Para caracterização prévia da

normalidade, tanto para as amostras de soro, como para as amostras de LCR, foram realizados estudos comparativos com dados já estabelecidos anteriormente no nosso meio. O estudo das imunoglobulinas no soro e no LCR foram realizados por dois métodos: imunodifusão radial e nefelometria. Os valores encontrados (média \pm desvio padrão) são os que se seguem (mg/dl). Para o soro: pelo método de IDR IgG 1346 \pm 299,1; IgM 10,4 \pm 2,26; IgA 1,1 \pm 1,06; pelo método de nefelometria IgG 1372 \pm 319,7; IgM 10,6 \pm 4,10; IgA 1,5 \pm 0,31. Nas amostras de LCR ambos os métodos não permitiram detectar IgA e IgM; IgG foi detectada por ambos e os valores observados (média \pm desvio padrão) foram (mg/dl): por imunodifusão radial 11,1 \pm 2,52; por nefelometria 9,6 \pm 7,04. Foram estudadas também as relações e o índice de IgG; deles, salienta-se que o índice de IgG, apresenta valores normais de 0,5 \pm 0,14.

SUMMARY

Cerebrospinal fluid immunoglobulins in the newborn.

Immunoglobulins IgG, IgA and IgM were studied in serum and cerebrospinal fluid (CSF) samples from 36 newborn infants in the second day of life. According to parameters previously established in the same laboratory for normal newborn infants, serum proteins were normal in all samples and CSF composition was normal as to blood pigments, cells, total proteins and protein fractions in all samples. Immunoglobulins concentrations were determined by two methods: radial immunodiffusion (RID) and nephelometry. Concentrations found (mean \pm standard deviation) were as follows (mg/dl). Serum: through the RID method IgG 1346 \pm 299.1, IgM 10.4 \pm 2.26, IgA 1.1 \pm 1.06; through nephelometry IgG 1372 \pm 319.7, IgM 10.6 \pm 4.10, IgA 1.5 \pm 0.31. Cerebrospinal fluid: IgA and IgM were not detected by the methods employed; IgG was detected by both methods, and values were 11.1 \pm 2.52 by RID and 9.6 \pm 7.04 by nephelometry. IgG relations and IgG index were also evaluated; values of the IgG index (0.5 \pm 0.14) are emphasized. Considerations are made in order to point out data obtained as to characterize normal values for immunoglobulins in the cerebrospinal fluid of normal newborn infants.

REFERÊNCIAS

1. DINIZ, E.M.A. — Análise do líquido cefalorraqueano de recém-nascido pré-termo de alto risco no período néo-natal. Dissertação de Mestrado. FMUSP, São Paulo, 1980.
2. DINIZ, E.M.A.; SPINA-FRANÇA, A.; LIVRAMENTO, J.A.; MACHADO, L.R.; CASTILHO, E.A.; CORRADINI, H.B. & VAZ, F.A.C. — Líquido cefalorraquídeo de recém-nascidos pré-término durante el período neo-natal. I — Aspectos bioquímicos. Bol. méd. Hosp. inf. Méx. 39:253, 1982.
3. DINIZ, E.M.A.; SPINA-FRANÇA, A.; LIVRAMENTO, J.A.; MACHADO, L.R.; CASTILHO, E.A.; CORRADINI, H.B. & VAZ, F.A.C. — Líquido cefalorraquídeo de recém nascidos pré-término durante el período neo-natal. II — Estudio citomorfológico. Bol. méd. Hosp. inf. Méx. 39:409, 1982.
4. DINIZ, E.M.A.; SPINA-FRANÇA, A.; LIVRAMENTO, J.A.; MACHADO, L.R.; CASTILHO, E.A.; CORRADINI, H.B. & VAZ, F.A.C. — Líquido cefalorraquídeo de

- reciém nacidos pré-término durante el periodo neo-natal. III — Estudio proteínico. Bol. méd. Hosp. inf. Méx. 39:473, 1982.
5. KLEINE, T.O. & MERTEN, B. — Comparative studies of IgG determination with three nephelometric and two turbidimetric assays in cerebrospinal fluid. J. clin. Chem. clin. Biochem. 17:507, 1979.
 6. KLEINE, T.O. & MERTEN, B. — Rapid manual immunoturbidimetric and immunonephelometric assays of prealbumin, albumin, IgG, IgA and IgM in cerebrospinal fluid. J. clin. Chem. clin. Biochem. 18:245, 1980.
 7. LIVRAMENTO, J.A. — Imunoglobulinas do líquido cefalorraqueano normal. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 37:230, 1979.
 8. LIVRAMENTO, J.A. — Imunoglobulinas do líquido cefalorraqueano normal. II — Relações e índices. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 37:397, 1979.
 9. LIVRAMENTO, J.A.; LUZ, B.R.; HAUSSEN, S.R. & SPINA-FRANÇA, A. — Citomorfologia do líquido cefalorraqueano do recém-nascido normal. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 32:207, 1974.
 10. LUZ, B.R. — Contribuição para o estudo da xantocromia do líquido cefalorraqueano de recém-nascidos normais. Tese. FMUSP, São Paulo, 1971.
 11. LUZ, B.R. — Composição do líquido cefalorraqueano do recém-nascido normal. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 33:200, 1975.
 12. NASPITZ, C.K.; SOLÉ, D.; SAMPAIO, M.C. & GONZALEZ, C.H. — Níveis séricos de IgG, IgM, IgA em crianças brasileiras normais. J. Ped. 52:121, 1982.
 13. REIS, J.B.; DINIZ, H.B. & WOISKI, J.R. — Conceito de normalidade do líquido cefalorraqueano no primeiro ano de vida. Hospital (Rio de Janeiro) 78:1457, 1970.
 14. SCHLENSKA, G.K. & KLEINE, T.O. — Sensitivity for the determination of IgG, IgA and IgM by three commercially available procedures with different antisera and standards. J. clin. Chem. clin. Biochem. 17:508, 1979.
 15. SPINA-FRANÇA, A.; LUZ, B.R. & HAUSSEN, S.R. — Proteinograma do líquido cefalorraqueano do recém-nascido normal. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 32:212, 1974.
 16. SPINA-FRANÇA, A.; LIVRAMENTO, J.A. & VAZ, F.A.C. — Proteinograma do líquido cefalorraqueano do recém-nascido pré-termo sadio. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 36:114, 1978.
 17. VAZ, F.A.C. — Contribuição para o estudo do líquido cefalorraqueano de recém-nascidos pré-termo sadios. Tese. FMUSP, São Paulo, 1975.
 18. VAZ, F.A.C.; LIVRAMENTO, J.A. & SPINA-FRANÇA, A. — Líquido cefalorraqueano no recém-nascido pré-termo sadio. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 35:183, 1977.
 19. VAZ, F.A.C.; LIVRAMENTO, J.A. & SPINA-FRANÇA, A. — Composición del líquido cefalorraquídeo del recién nacido pré-término. Bol. méd. Hosp. inf. Méx. 34:1135, 1977.

Centro de Investigações em Neurologia, FMUSP — Caixa Postal 5199 — 01000, São Paulo, SP — Brasil.