

IMUNOGLOBULINAS DO LIQUIDO CEFALORRAQUEANO NORMAL

J. A. LIVRAMENTO *

A introdução do conceito de imunoglobulinas abriu novo campo de pesquisas na avaliação das afecções do sistema nervoso central (SNC), com novas perspectivas para os estudos sobre o líquido cefalorraqueano (LCR) em diversas condições mórbidas, notadamente nos processos inflamatórios do SNC. Devido à alta incidência de afecções inflamatórias do SNC em nosso meio, devido a peculiaridades nutricionais locais e dada a miscigenação racial de nossa gente, importa estabelecer parâmetros de avaliação aplicáveis ao conceito regional de normalidade.

Em 1959 Heremans introduziu o termo "imunoglobulinas" para conceituar proteínas com a propriedade de agir como anticorpos²⁵. Estas foram estudadas por ele no sangue, por imunoeletroforese, distribuindo-se entre a zona beta e a zona gama. Foram elas designadas imunoglobulina gama, imunoglobulina beta-2 A e macroimunoglobulina beta-2 M²⁵. Ulteriormente, novas denominações foram propostas, passando a ser designadas como IGG, IGA e IGM, respectivamente. Sucessivos estudos levaram à descrição de novas imunoglobulinas, reunidas em 5 grupos: IGG, IGA, IGM, IGD e IGE⁹⁰. Todas possuem características de potencial imunológico: bipolaridade, heterogeneidade e assimetria⁶⁰. Atualmente, distinguem-se quatro subclasses de IGG humana (IGG-1, IGG-2, IGG-3 e IGG-4), todas antigenicamente diferentes, ocorrendo em concentrações próprias⁶⁸. Elas têm propriedades biológicas distintas, mas peso molecular de 160.000. A IGA tem duas subclasses (IGA-1 e IGA-2) e apresenta peso molecular de 170.000. A IGM, apresenta peso molecular de 900.000. Ela é a maior das imunoglobulinas conhecidas. O peso molecular da IGD é 184.000 e da IGE, 188.000. Ainda não foram descritas subclasses destas imunoglobulinas. Baseiam-se os principais métodos de dosagem prática de imunoglobulinas em: 1 — imunodifusão radial simples^{49,6,18,69}; 2 — eletroimunoensaio ("rocket electrophoresis")^{39,52,89}; 3 — imunoprecipitação automática^{31,51,32,33}; 4 — radioimunoensaio⁹³.

É superior a 250 o número de publicações sobre valores normais e patológicos das imunoglobulinas IGG, IGA e IGM no soro acumuladas na literatura a partir de 1960. O conceito de normalidade sofre variações dependentes de diversos fatores que merecem ser enumerados^{30,77}. Podem eles resultar das diferentes técnicas utilizadas, das diferenças entre os antígenos empregados, de diferenças na composição do grupo controle, de fatores exógenos ou endógenos,

Resumo de Dissertação de Mestrado da Clínica Neurológica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: *Médico Assistente do Centro de Investigações em Neurologia.

de fatores genéticos. Entre os fatores exógenos são salientados o estado nutricional, a classe social, o local de residência (se urbano ou rural) e o clima (particularmente a estação do ano). Entre os fatores endógenos são relacionados a idade, o sexo e a cor⁴⁷.

Até 1970, as variações quanto à concentração normal apresentavam-se entre os valores seguintes: para IGG, média de 691 até 1.820 mg/100 ml; para IGA, média de 112 a 525 mg/100 ml; para IGM, média de 27 até 215 mg/100 ml^{30,79}.

Para maior uniformidade entre os resultados, o Centro de Referências para Imunoglobulinas da Organização Mundial de Saúde, em 1970, patrocinou estudo de que participaram pesquisadores de diversos países. Foi estabelecido um sistema de Unidades Internacionais (UI) com amostras de soro submetidas a análise comparativa em 13 laboratórios de 8 países^{27,61,62}. Foram preparadas a partir de então ampolas contendo liofilizado de soro. Cada uma continha 0,8147 mg de pó seco e a atividade média por ampola era de 100 UI por ml de IGG, IGA e IGM. Em função desses estudos foi proposta, em 1972, a adoção da UI por ml para expressar as concentrações das imunoglobulinas¹. No Centro de Pesquisas Imunoquímicas da FMUSP, com material fornecido pela Organização Mundial de Saúde, foi estabelecido que 1 mg de IGG equivale a 10,98 UI; 1 mg de IGA equivale a 60,34 UI e 1 mg de IGM equivale a 117,40 UI²⁸.

As variações das imunoglobulinas no soro relacionadas à idade, ao sexo e à cor são mais evidenciadas no estudo da imunoglobulina G^{7,8,29} que aumenta com a idade, atingindo valores máximos na terceira década de vida. As maiores modificações estão relacionadas aos níveis proporcionalmente menores de IGG nos primeiros meses de vida e na senectude^{78,80,92}. A IGA aumenta com a idade ou permanece inalterada no decorrer da vida. A IGM, em pessoas idosas decresce a valores semelhantes àqueles encontrados na infância. A influência da idade é maior que a do sexo e a da cor. Existem diferenças raciais significativas porquanto os negros têm maior teor de IGG que os brancos. Para a IGM isto não foi observado. Fatores econômico-sociais podem interatuar no que tange a esse fator racial. Quanto ao sexo, é descrito que as imunoglobulinas são ligeiramente mais elevadas no sexo masculino, tanto na raça branca como na negra, em condições normais⁸. Fatores genéticos podem ter atuação. Grundbacker mostrou haver variações na concentração de IGM no soro na dependência do cromossoma X. Este cromossoma pode levar genes que modificam a concentração de IGM. O mesmo não foi demonstrado em relação à IGG e à IGA²³.

Todas as possibilidades de variações mencionadas levaram a que em diversos países fossem estabelecidos padrões regionais de normalidade, considerando a atuação de fatores endógenos e exógenos.

Exemplificam as características das imunoglobulinas no soro de adultos sadios no Brasil, o resultado de estudo efetuado no Centro de Pesquisas Imunoquímicas da FMUSP²⁸. Para 34 adultos normais foram registradas as médias seguintes: IGG 1.233 mg/100 ml (142 UI/ml); IGA 206 mg/100 ml (122 UI/ml); IGM 178 mg/100 ml (204 UI/ml). O desvio padrão foi: para IGG 251 mg/100

ml (29 UI/ml); para IGA 68 mg/100 ml (40 UI/ml); para IGM 72 mg/100 ml (83 UI/ml). Os limites fiduciais (para t a 0,05) foram os seguintes: IGG entre 809 e 1.745 mg/100 ml (ou 93 e 201 UI/ml); IGA entre 78 e 386 mg/100 ml (ou 46 e 229 UI/ml); IGM entre 60 e 365 mg/ mg/100 ml (ou 69 e 420 UI/ml).

IMUNOGLOBULINAS DO LCR

O baixo teor proteico encontrado no LCR em relação ao sangue é explicado pela existência da barreira hêmato-liquórica (BHL) que restringe a entrada de proteínas do sangue no SNC e limita sua difusão no espaço intercelular²⁶; havendo comprometimento da BHL, elementos do sangue têm facilitada sua passagem ao SNC e ao LCR. Tal ocorre em relação às proteínas, inclusive às imunoglobulinas. Seu desempenho sobressai quando são considerados os três mecanismos principais responsabilizados pelo aumento de imunoglobulinas no LCR: aumento dos níveis de imunoglobulinas no sangue, comprometimento da BHL e síntese local.

O aumento dos níveis de imunoglobulinas no soro pode determinar aumento no LCR. Isto é observado em paraproteinemias nas quais é encontrado aumento de imunoglobulinas no LCR devido à presença das mesmas paraproteínas reconhecidas no sangue por eletroforese e imunoeletroforese. Na maioria das vezes o fato é observado em relação a mielomas tipo IGG e tipo IGA.

O comprometimento da BHL levando a aumento da sua permeabilidade é a condição mais frequentemente responsável por aumento de imunoglobulinas no LCR. Há aumento da concentração proteica total que costuma acompanhar-se de aumento da concentração de imunoglobulinas²⁷. Leptomeningites agudas bacterianas ou a vírus, encefalites agudas, doenças cerebrovasculares, tumores, diabetes e lupus eritematoso sistematizado, são alguns dos exemplos de condições patológicas em que este mecanismo é o principal responsável por aumento de imunoglobulinas no LCR.

Síntese local de anticorpos no SNC pode ocorrer em várias condições patológicas, mesmo na vigência de integridade da BHL e estando a concentração protéica do LCR em níveis normais. Dos estudos sobre diversas condições mórbidas em que esse mecanismo é considerado satisfatório para explicar o aumento de imunoglobulinas no LCR, destacam-se aqueles sobre a esclerose múltipla e a panencefalite esclerosante sub-aguda^{3,9,19,36,40,44,45,48,57,78, 80, 83, 84}. Na neurosífilis⁵⁶ e na neurocisticercose^{72,73} o aumento ao nível do SNC de imunoglobulinas é evidente, sugerindo síntese local e podendo associar-se, em dadas fases da doença, a aumento por estar comprometida a BHL, à semelhança do que se observa na meningoencefalite tuberculosa. Tal aumento decorre da produção de IGG, intensa em alguns casos. O contingente IGA sofre pequenas variações. Estudos quanto à IGM não são satisfatórios embora haja registros indicativos da possibilidade de ocorrer produção local de IGM. Lord & col. verificaram dados passíveis de se relacionar à síntese local de IGM em células de parênquima nervoso, síntese esta detectada no LCR, em caso de imuno-

deficiência combinada a encefalopatia crônica. Nesse caso não foi detectada IGM no soro⁴⁶. Udeozo & col. verificaram aumento isolado de níveis de IGM no LCR em linfoma tipo Burkitt com diminuição de IGM no soro⁸⁸. A liberação de imunoglobulinas por células imunocompetentes do LCR, observada "in vitro" é outro dado favorável para admitir a síntese local de imunoglobulinas. Cohen & Bannister verificaram que linfócitos do LCR de pacientes com esclerose múltipla eram capazes de sintetizar "in vitro" IGG e IGA, não verificando o mesmo para IGM¹³. Sandberg-Wolheim verificou síntese "in vitro" de IGG e IGA por linfócitos do LCR em pacientes com esclerose múltipla; comparando essa síntese com a de linfócitos do sangue dos mesmos pacientes "in vitro", verificou que a destes últimos era inferior⁶³; a IGG sintetizada pelos linfócitos do LCR e do sangue apresentava caracteres diferentes, quando submetida a análise eletroforética; verificou ainda que esta síntese de IGG e IGA "in vitro", ocorria também em pacientes com meningoencefalites a vírus⁶⁴.

Qualquer seja o principal mecanismo responsável pelo aumento de imunoglobulinas no LCR, o fato é que desde o advento das novas técnicas de dosagem das imunoglobulinas no soro, diversos autores passaram a estudar o comportamento delas no LCR em condições normais e patológicas. Até então, a maioria dos estudos era baseada em imunoeletroforese, mas problemas técnicos dificultavam seu isolamento adequado. Em 1965 Link, por exemplo, chamou a atenção para o fato de que a IGG se apresenta contaminada por certos componentes proteicos dos grupos beta e gama. Para contornar o problema, tentou ele, em LCR concentrado, isolar IGG por cromatografia⁴². Foi só em 1966 que foram registrados por Hartley & col. os primeiros resultados de quantificação das imunoglobulinas do LCR normal, verificados em 26 pacientes²⁴: usaram eles técnicas de eletroimunodifusão e obtiveram no LCR não concentrado valores para IGG entre 1,0 e 3,1 mg/100 ml (média 2,3 mg/100 ml). Não foi encontrada IGA senão após concentrar 10 vezes a amostra de LCR: com isto, determinaram sua presença, sendo de 0,17 mg/100 ml a concentração média. A imunoglobulina IGM não foi observada mesmo nas amostras concentradas. Não foi observada correlação significativa entre as concentrações de IGG no LCR e no soro.

A partir de então, diversos autores trabalhando quer com a imunodifusão radial simples, como com eletroimunodifusão ou com imunoprecipitação, registraram os respectivos resultados. Em função desses dados configura-se ser IGG a principal imunoglobulina do LCR. Normalmente constitui ela cerca de 10% do total das proteínas do LCR, segundo Tourtelotte & col.^{82,85,86}. Quando esses dados são comparados aos de Chodirker & Tomasi¹¹ verifica-se que a participação de IGA no perfil encontra-se ao redor de 2%. Para Link⁴³ não excede 1,6% e o da IGM situa-se até 0,7%. A proporção aproximada de 10:2:1 configura o limite da participação no perfil proteico do LCR normal de IGG, IGA e IGM⁷⁵. A IGD é referida como ocorrendo somente em condições patológicas, quando há comprometimento nítido da BHL⁸².

O conceito de normalidade para as diversas imunoglobulinas do LCR tem sofrido variações de acordo com o método utilizado. Essas variações são geralmente pequenas. Em 1967, Maravi & col. estudando 80 amostras de LCR

consideradas normais, verificaram, pelo método de Ouchterlony, presença constante de IGG, presença esporádica de IGA, ausência de IGM⁵⁰.

Em 1968, Paltrinieri & Canger registraram as seguintes médias para imunoglobulinas do LCR normal, segundo imunoprecipitação: IGG 4,3 e IGA 0,20 mg/100 ml⁵⁹. Mediante imunodifusão radial, Paltrinieri verificou em 30 pessoas normais o valor médio de IGA de $0,18 \pm 0,02$ mg/100 ml (0,3 a 1,6%)⁵⁸.

Em 1969 e 1970 vários autores se ocuparam do assunto. Clausen & col. empregando imunodifusão radial encontraram para IGG valores normais de $1,81 \pm 0,48$ mg/100 ml. Não verificaram correlação entre os valores de IGG determinados por esse método e os valores de globulinas gama obtidos por eletroforese. No entanto, em casos de esclerose múltipla essa correlação era significativa¹². Delank & Wrede registraram valores normais para IGG entre 0,8 e 2,3 mg/100 ml e, para a IGA, de 0,10 a 0,30 por imunodifusão radial¹⁴. Mussiani & col. estudaram por eletroimunodifusão "pools" de LCR normais, verificando que a concentração de IGG variava entre 2 e 3,5 mg/100 ml⁵⁵. Dencker, usando variante do método de Ouchterlony, encontrou no LCR de 18 pessoas normais valores para a IGG de $4,4 \pm 1,1$ mg/100 ml^{15,16}. Laffin usando metodologia segundo Oudin e trabalhando com LCR não concentrado encontrou valores normais para a IGG entre 1,0 e 5,4 mg/100 ml, (5,6 a 14% das proteínas totais)³⁷. Bauer & Gottesleben concentrando o LCR cerca de 80 vezes e empregando o método de Mancini consideraram normais os valores seguintes: IGG $1,8 \pm 0,2$ e IGA $0,2 \pm 0,1$ mg/100 ml². Link & Müller pelo método de Mancini e por eletroimunodifusão encontraram IGG entre 0,8 e 3,5 mg/100 ml (2,8 a 10,6%) com média de 2,2 e IGA entre 0 e 0,6 mg/100 ml (1,9%); não foi detectada a IGM nessa série em 30 casos normais²⁷.

A partir de 1970, outros registros foram feitos. Tourtellote, mediante imunoprecipitação, encontrou para IGG valor médio de 3,6 mg/100 ml (1,8 a 5,4)⁸¹. Ulteriormente, com seus colaboradores e utilizando eletroimunodifusão, registrou para IGG valor médio de 2,7 mg/100 ml (0,6 a 4,8) também para pessoas normais⁸⁵. Para Tavolato & Zanche o valor médio normal de IGG no LCR para imunodifusão radial é de 2,66 mg/100 ml (1,8 a 3,7)⁸¹. Link⁴³ passou a considerar normal no perfil proteico haver 5,0% em média de IGG (3,4 — 8,3); 0,8% de IGA (0,4 — 1,6) e até 0,7% de IGM, para imunodifusão radial. Para o mesmo método Laterre & Heulle³⁸ consideram normal para a concentração de IGG $2,8 \pm 1,0$ mg/100 ml ou $11,3 \pm 3,3\%$. Levin & col., usando a técnica de radioimunoensaio determinaram, em 22 pacientes com afecções do SNC, valores de IGG no LCR representados pela média de 4,3 mg/100 ml (2,8 — 7,5) ou seja 6 a 21% da concentração de proteínas totais⁴¹.

Savory & col. não concentrando o LCR e empregando técnica de Oudin, obtiveram em 39 adultos normais valores de IGG entre 0,7 e 3,8 mg/100 ml (3,5 a 10,8%) e para a IGA entre 0 e 0,4 mg/100 ml (0 a 1,0%) e não detectaram IGM^{65,66}. Em 20 pessoas normais Glasner & Wenig encontraram no LCR por imunodifusão radial $1,5 \pm 0,65$ mg/100 ml de IGG (0,2 — 2,8) e $0,19 \pm 0,073$ (0,04 — 0,34) de IGA, não tendo detectado IGM²² Bock⁴, estudando por eletroimunoensaio, o LCR de 22 pacientes psiquiátricos com LCR normal encontrou valores médios para a IGG de 2,45 mg/100 ml e para a

IGA de 0,16 mg/100 ml. Juntamente com seus colaboradores, comparou os achados com os do LCR de 12 pacientes demenciados, não encontrando diferença significativa entre os dois grupos.⁵ Cerrato & col., determinaram por imunodifusão radial, IGG e albumina no LCR normal, encontrando valores entre 0,8 — 3,5 mg/100 ml para IGG e para albumina entre 12 e 29¹⁰. Weisner & col. estudando 190 LCR normais encontraram, pela imunodifusão radial, valores médios para a IGG de $1,9 \pm 0,7$ e para IGA de 0,2 a 0,4 mg/100 ml⁹³. Para Eickhoff & col. os valores de IGG no LCR normal, situam-se abaixo de 4 mg/100 ml e os de IGA, abaixo de 0,7, quando utilizada imunodifusão radial¹⁷. Estudando 90 LCR normais por eletroimunodifusão, Schliep & col. encontraram, como valores médios, para IGG $1,23 \pm 0,64$ para a IGA $0,13 \pm 0,06$ e para IGM $0,06 \pm 0,03$ mg/100 ml⁶⁷. Meyer-Rienecker usando modificações da técnica de imunoelctroforese encontrou os valores normais médios seguintes, para LCR: IGG 1,7, IGA 0,2 e IGM 0,06 mg/100 ml⁵³. Kleine & col. comparando valores obtidos por imunodifusão radial antes de concentrar o LCR e após concentração por ultrafiltração a vácuo e por liofilização, encontraram valores semelhantes para os três procedimentos³⁴. Kolar & col. estudando as concentrações de IGG, IGA e IGM no soro de 1.038 pacientes com afecções do SNC e comparando os resultados aos de 521 amostras de LCR deles obtidas, não encontraram correlação significativa³⁵.

Os primeiros investigadores da América do Sul a registrar seus achados sobre as imunoglobulinas do LCR normal foram Monari & col., em 1978. Mediante imunodifusão radial registraram os valores médios seguintes: IGG 2,43 e IGA 0,27 mg/100 ml. A IGM não foi detectada⁵⁴.

De acordo com esses diversos autores verifica-se que, independentemente dos métodos utilizados, há poucas diferenças nos níveis de imunoglobulinas do LCR normal. *Podem ser tomados como referência valores entre 1 e 4 mg/100 ml para IGG, representando de 4 a 11% das proteínas totais. A IGA apresenta-se entre 0 e 0,4 mg/100 ml; a IGM é de observação eventual. A IGD e a IGE não são detectadas pelos métodos utilizados*²⁶.

Não é a mesma a proporção guardada entre si pelas diversas frações proteicas que entram na composição do LCR ventricular, cisternal e lombar normais⁷³. Assim sendo, é de esperar que ocorram diferenças quanto à concentração de imunoglobulinas. Em relação a esse aspecto do problema estudos já foram efetuados por Weisner & col.^{91,92,93}. No mesmo sentido, colocam-se os dados de Fossan & Larsen sobre a análise da concentração de IGG em sucessivas porções de LCR colhido mediante punção lombar²¹.

O objetivo deste trabalho é contribuir para estabelecer valores próprios à normalidade para imunoglobulinas do LCR, que possam servir de parâmetros adequados de avaliação em nosso meio.

MATERIAL E METODOS

Foram estudadas as imunoglobulinas do LCR de 50 pessoas com cefaléia crônica, apresentando exame físico e exame neurológico normais, bem como eletrencefalograma, exame do LCR e proteinograma do soro dentro dos limites da normalidade. Dos 50

casos, 33 eram do sexo feminino e 17 do sexo masculino; as idades variavam entre 14 e 60 anos (média 27,3; desvio padrão 9,91); 40 eram brancos, 2 amarelos e 8 pardos ou pretos.

Em todos os casos foram analisadas: uma amostra de LCR colhida por punção sub-occipital; o proteinograma do soro em amostra de sangue colhida na mesma ocasião, mediante punção venosa, estando o paciente em jejum de pelo menos 8 horas.

Para a caracterização da normalidade do LCR 74 foram avaliados em cada caso: a pressão inicial e a final (após colheita de 10 ml), expressando em cm de água os valores obtidos com manômetro aneróide de Claude; o aspecto e a cor; a citometria, referindo o número de células por mm³; a dosagem de proteínas totais, de cloretos e de glicose, expressando os valores encontrados em mg/100 ml; as reações de Pandy, de Nonne e de Takata-Ara, para globulinas; as reações imunológicas de floculação (reação do VDRL) e de fixação do complemento (reação de Wassermann) para sífilis e a reação de fixação do complemento para cisticercose (reação de Weinberg); as enzimas transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e desidrogenase láctica (DHL), expressando a atividade encontrada em unidades Sigma-Frankel e em unidades King por ml, respectivamente; o perfil eletroforético. Os caracteres gerais das amostras de LCR média, desvio padrão, valores máximo e mínimo constam da Tabela 1. Todas as amostras eram límpidas e incolores, anemáticas e as reações imunológicas para sífilis e para cisticercose não-reagentes.

Para o estudo do proteinograma, a determinação da concentração de proteínas totais foi feita pelo método turbidimétrico do ácido tricloroacético para o LCR e do biureto para o soro. As amostras de LCR foram concentradas mediante diálise contra solução macromolecular de goma arábica. A análise das frações proteicas, tanto no LCR como no soro, foi feita mediante emprego de eletroforese em gel de acetato de celulose (*Cellogel*, Chemetron, Milano). Os resultados obtidos foram expressos em percentagem e em concentração por 100 ml. Estes últimos valores foram calculados em função da concentração proteica total de cada amostra. Constam das tabelas 2 (LCR) e 3 (soro sanguíneo) as respectivas médias, desvio padrão e valores máximo e mínimo. Esses valores acham-se dentro dos limites de normalidade estabelecidos para nosso meio 70,71,72,73.

No material assim caracterizado do ponto de vista da normalidade é que foi feito o estudo das imunoglobulinas.

O material, após as análises anteriormente citadas, foi conservado em congelador a -20°C até a época de ser estudado. A determinação das imunoglobulinas tanto no soro como no LCR foi feita pela técnica de imunodifusão radial (IDR) de Mancini 49. Foram estudadas as imunoglobulinas IGG, IGA e IGM, mediante o emprego de placas para IDR tipo TRI-PARTIGEN para o soro e tipo LC-PARTIGEN para o LCR, de procedência Behring (Behringwerke, Marburg/Lahn). Três padrões de concentração conhecida (P_1 , P_2 e P_3) foram usados para cada lote de placas, sendo que em cada uma havia dois padrões e dez amostras sendo testadas. Os padrões foram preparados a partir de soro no qual era conhecida a concentração de cada imunoglobulina, segundo determinação efetuada pelos fornecedores, procedendo ele do mesmo laboratório no qual foram preparadas as placas utilizadas para IDR.

Para determinação de IGG no soro, cada amostra foi diluída a 1/5; para IGA e IGM, cada amostra foi usada sem diluição. Em cada poço de placa foram colocados 5 μ l do soro. Na determinação das imunoglobulinas no LCR foram utilizadas diluições adequadas da mesma solução padrão, distribuídas de modo semelhante que para o soro, isto é, em cada placa, duas diluições do padrão e dez amostras do material em estudo. Em cada lote de placas, as três diluições do padrão foram analisadas também. Foi utilizado sempre LCR não concentrado: 20 μ l em cada poço, na determinação de IGG; na determinação de IGA e de IGM, 80 e 100 μ l, respectivamente.

A leitura dos diâmetros de precipitação de imunoglobulinas foi feita em cada placa após 72 horas, utilizando imunoscópio. Para as placas LC-PARTIGEN a leitura foi feita após prévio tratamento por ácido tânico a 4% por 3 minutos, seguido de lavagem em água corrente 28,90. A concentração em mg por 100 ml foi obtida mediante o método dos mínimos quadrados, utilizando computador Ollivetti modelo P-602, previamente programado em função dos resultados obtidos para os padrões empregados. Para transformar os resultados em mg/100 ml em unidades internacionais/ml foram utilizados os valores de correção calculados no Centro de Pesquisas Imunoquímicas da FMUSP 28.

RESULTADOS

Os resultados obtidos para as imunoglobulinas do soro variaram entre os seguintes valores mínimo e máximo: IGG 742 e 2.881 mg/100 ml ou 81 e 316 UI; IGA 95 e 370 mg/100 ml ou 57 e 223 UI; IGM 62 e 355 mg/100 ml ou de 73 a 417 UI.

Os resultados quanto às imunoglobulinas do LCR variaram entre 1,55 e 3,97 mg/100 ml ou 0,17 e 0,44 UI para IGG; para IGA os valores encontravam-se entre 0 e 0,62 mg/100 ml ou 0 e 0,37 UI. Em todos os casos não foi detectada a presença de IGM no LCR. Os resultados das imunoglobulinas do soro em mg por 100 ml encontram-se na tabela 4 e as do LCR em mg por 100 ml na tabela 5.

As estimativas da população estudada são apresentadas em tabelas para as imunoglobulinas do soro (Tabela 6) e do LCR (Tabela 7). Nelas constam os resultados quanto à média, ao desvio padrão, ao desvio da média e aos limites fiduciais para probabilidade de $t = 0,05$, para a expressão dos resultados em mg/100 ml.

	Pressão inicial (cm de água)	Pressão final (cm de água)	Leucócitos por mm ³	Proteínas totais	Cloretos (mg/100ml)	Glicose	TGO un.Sigma- Frankel	DHL un. King
\bar{x}	11,1	4,8	1,0	20,5	716,0	60,2	12,8	39,0
s	2,66	1,80	0,68	4,12	16,82	6,86	3,94	9,15
M	18	9	2,3	29	767	78	20	50
m	6	0	0	8	671	50	6	20

Tabela 1 — Caracteres gerais das amostras de LCR.

	Pré-Albumina		Albumina		Globulinas									
	%	mg/100ml	%	mg/100ml	Alfa-1		Alfa-2		Beta		Tau		Gama	
					%	mg/100ml	%	mg/100ml	%	mg/100ml	%	mg/100ml	%	mg/100ml
x	5,86	1,167	56,04	11,520	4,10	0,839	6,73	1,379	9,69	1,969	5,97	1,229	11,64	2,384
s	1,294	0,2328	3,587	2,6727	1,144	0,2959	1,647	0,4335	2,0548	0,5328	1,436	0,3948	1,879	0,6244
M	8,0	1,67	62,0	17,98	6,7	1,54	10,6	2,18	15,0	3,14	8,7	2,05	14,0	3,70
m	2,7	0,64	47,0	4,64	2,0	0,33	3,00	0,44	6,1	0,77	3,0	0,30	7,3	0,88

Tabela 2 — Proteinograma do LCR. Concentração proteica total referida na tabela anterior.

	Proteínas totais (g/100ml)		Albumina (g/100ml)		Globulinas									
	%	g/100ml	%	g/100ml	Alfa-1		Alfa-2		Beta		Gama			
					%	g/100ml	%	g/100ml	%	g/100ml	%	g/100ml	%	g/100ml
x	7,56	56,97	4,286	4,286	4,42	0,332	9,06	0,681	12,07	0,907	17,29	1,310		
s	0,438	5,731	0,4896	0,4896	1,246	0,0911	1,654	0,1296	2,275	0,2619	2,934	0,2433		
M	8,2	66,6	5,20	5,20	6,8	0,53	12,9	1,03	18,9	1,39	23,1	1,70		
m	6,4	42,6	3,09	3,09	1,1	0,10	5,4	0,34	7,8	0,60	10,2	0,71		

Tabela 3 — Proteinograma do soro sanguíneo.

Caso	IGG	IGA	IGM
1	1380	207	162
2	1341	207	183
3	1116	116	162
4	1797	310	130
5	1380	242	234
6	2117	271	142
7	2881	194	326
8	1582	121	142
9	1468	295	91
10	1010	152	179
11	1230	152	291
12	1619	336	169
13	2549	160	347
14	1999	160	269
15	1308	176	208
16	2174	370	345
17	985	212	196
18	1295	352	196
19	1204	156	355
20	1249	118	123
21	1897	176	245
22	1971	116	119
23	923	279	97
24	1193	95	107
25	1749	181	136
26	2084	181	174
27	1241	162	124
28	1337	214	161
29	1386	235	62
30	1589	144	142
31	1641	168	142
32	1104	150	201
33	742	174	217
34	917	156	163
35	1726	144	135
36	1615	213	185
37	1781	132	163
38	2829	180	313
39	1056	138	116
40	1726	200	294
41	1900	193	166
42	1900	248	181
43	2273	227	267
44	1700	310	145
45	1372	144	145
46	1463	174	107
47	1284	193	101
48	1463	241	107
49	2273	200	132
50	1372	294	119

Tabela 4 — Imunoglobulinas do soro
(mg/100 ml).

Caso	IGG	IGA	IGM
1	3,04	0,30	—
2	3,81	0,10	—
3	3,19	0,18	—
4	3,19	0,52	—
5	1,68	0,10	—
6	1,80	0,18	—
7	2,06	0,30	—
8	2,20	0,26	—
9	1,75	0,51	—
10	3,47	0,58	—
11	2,01	0,58	—
12	2,86	0,62	—
13	2,57	0,62	—
14	2,15	0,24	—
15	2,01	0,24	—
16	1,67	0,38	—
17	1,55	0,18	—
18	1,93	0,38	—
19	2,06	0,29	—
20	2,20	0,00	—
21	2,20	0,00	—
22	2,47	0,03	—
23	1,80	0,03	—
24	1,55	0,34	—
25	2,06	0,34	—
26	2,06	0,34	—
27	3,97	0,38	—
28	1,92	0,47	—
29	2,06	0,56	—
30	1,93	0,03	—
31	2,06	0,26	—
32	2,34	0,43	—
33	2,34	0,39	—
34	2,64	0,39	—
35	2,94	0,11	—
36	3,58	0,47	—
37	3,10	0,51	—
38	2,19	0,51	—
39	2,34	0,11	—
40	2,49	0,51	—
41	2,19	0,45	—
42	2,06	0,33	—
43	3,04	0,41	—
44	1,93	0,45	—
45	2,06	0,41	—
46	2,19	0,22	—
47	3,18	0,45	—
48	2,06	0,49	—
49	2,19	0,49	—
50	2,33	0,45	—

Tabela 5 — Imunoglobulinas do LCR
(mg/100mg).

Estimativa	IGG	IGA	IGM
Média (\bar{x})	1584	199	180
Desvio padrão (s)	475	65	73
Desvio da média ($s\bar{x}$)	67,19	9,19	10,33
$\bar{x} \pm s.t$	1584 \pm 955	199 \pm 131	180 \pm 147

Tabela 6 — *Imunoglobulinas do soro (mg por 100 ml): estimativas e limites fiduciais ($\bar{x} \pm s.t$) para $t = 0,05$*

Estimativa	IGG	IGA	IGM
Média (x)	2,37	0,34	—
Desvio padrão (s)	0,59	0,17	—
Desvio da média ($s\bar{x}$)	0,083	0,024	—
$\bar{x} \pm s.t$	2,37 \pm 1,19	0,34 \pm 0,34	—

Tabela 7 — *Imunoglobulinas do LCR (mg por 100 ml): estimativas e limites fiduciais ($\bar{x} \pm s.t$) para $t = 0,05$.*

COMENTARIOS

Em todos os estudos realizados com LCR, uma das maiores dificuldades é a quase impossibilidade de contar com amostras colhidas de pessoas normais. Isto se deve à natureza do exame em si, que resulta de indicações precisas para a sua realização. Quase sempre é necessário estudar amostras de LCR de pacientes cujos processos patológicos não são acompanhados de alterações do LCR. Na literatura sobre o assunto, os valores normais para o LCR são conceituados segundo esse princípio; habitualmente foi utilizado LCR de pacientes com psiconeuroses ou com queixas neurológicas vagas. Raros são os trabalhos sobre o assunto em que foram utilizados voluntários sadios para esse fim⁸³. Acrescente-se, como restrição a muitos dos registros, não estarem devidamente delineadas as características gerais de normalidade das amostras do LCR. Este aspecto da questão foi o motivo da criteriosa seleção adotada neste estudo. Assim, os 50 casos selecionados para a investigação apresentavam apenas cefaléia. Esta era crônica e não se acompanhava de qualquer alteração do exame clínico e do exame neurológico. Em todos o eletrencefalograma era compatível com a normalidade. Além disso, todos apresentavam as características gerais do LCR dentro dos limites normais, segundo os padrões aceitos em nosso meio para LCR colhido mediante punção sub-occipital⁷¹. As caracte-

Autor	Nº de casos	\bar{x}	IGG		\bar{x}	IGA		\bar{x}	IGM		Método
			m	M		m	M		m	M	
Levin & col.	22	4,3	2,8	— 7,5							RIE
Dencker	18	4,4									OCHT
Savory & Heintges	39		0,7	— 3,8		0	— 0,4			—	ODU
Meyer-Rienecker		1,7			0,2			0,06			IPT+IEF
Hartley & col.	26	2,3	1,0	— 3,1	0,17	0,10	— 0,25			—	EIE
Bock	22	2,45	0,50	— 6,50	0,16	0	— 0,90			—	EIE
Schliep & col.	90	1,23	0,03	— 3,0	0,13	0,03	— 0,30	0,06	0,01	— 0,10	EIE
Tourtellotte & Parker	48		1,3	— 2,2		0,03	— 0,42				IDR
Paltrinieri	30				0,18	0,13	— 0,23				IDR
Tavolato & Zanche		2,66	1,8	— 3,7							IDR
Bauer & Gottesleben	43	1,8			0,2					—	IDR
Delank & Wrede	20		0,8	— 2,3		0,10	— 0,30			—	IDR
Clausen & col.		1,81									IDR
Link & Müller	30	2,2	0,8	— 3,5		0	— 0,6			—	IDR
Laterre & Heulle		2,8									IDR
Glasner & Wenig	20	1,5	0,2	— 2,8	0,19	0,04	— 0,34			—	IDR
Cerrato & col.			0,8	— 3,5							IDR
Eickhoff & col.			até	4,0		até	0,7				IDR
Weisner & Bernhardt	190	1,9				0,2	— 0,4			—	IDR
Monari & col.	28	2,43			0,27					—	IDR
Livramento	50	2,37	1,18	— 3,56	0,34	0	— 0,68			—	IDR

Tabela 8 — Valores normais registrados para imunoglobulinas do LCR (IGG, IGA e IGM) em mg por 100 ml. Legenda: m, valor mínimo registrado; M, valor máximo registrado; (—), não encontrado; método de estudo: RIE, radioimunoensaio; OCHT, Ouchterlony; OUD, Oudin; IPT + IEF, imunoprecipitação associada a imunoeletroforese; EIE, eletroimunoensaio; IDR, imunodifusão radial.

ísticas gerais investigadas para avaliar a normalidade do LCR não se restringiram às próprias à citologia e a concentração proteica total. Basearam-se no levantamento desses dados e, ainda, dos dados sobre outros componentes do LCR e sobre sua pressão. Todos eles se encontravam dentro dos limites de normalidade mencionados.

Por outro lado, teve-se o cuidado de preliminarmente caracterizar o proteograma do LCR e do soro sanguíneo como estando dentro dos limites da normalidade, especialmente no que tange à albumina e à globulina gama, em função, do que foi estabelecido para o nosso meio^{28,70}.

Como todos esses dados caracterizam a normalidade imunológica dos casos, o critério de seleção adotado permite aceitar a validade dos resultados obtidos quanto às imunoglobulinas.

Para a caracterização da normalidade de imunoglobulinas do LCR é necessário analisar na mesma ocasião as imunoglobulinas do soro dos casos estudados. O estudo das imunoglobulinas foi efetuado pelo método de imunodifusão radial porque ele é suficientemente sensível e específico, tem boa reprodutibilidade, é de fácil manuseio, não necessita de aparelhagem de alto custo e, ainda, é o de emprego mais corrente na maioria dos laboratórios. Os valores obtidos encontram-se dentro dos limites normais, quando comparados com os de referência internacional, como os de Kalff³⁰ que se salientam pelo critério de seleção adotado, como os igualmente criteriosos de Irulegui-Gomes²⁸, para o nosso meio.

A avaliação aqui em nosso meio se impõe, dadas certas características. Peculiaridades da miscigenação racial observada em nosso país, peculiaridades nutricionais na maioria devidas a fatores econômico-sociais, peculiaridades climáticas de regiões tropicais e subtropicais aliam-se, aqui, a outros fatores. Salientam-se entre estes o resultado de repetitivos estímulos infecciosos, desencadeados destacadamente por processos parasitários. Tudo isto justifica levantamentos regionais de aspectos imunológicos, como o mencionado em relação a imunoglobulinas do soro²⁸.

Desde que as características imunobiológicas da população estudada encontram-se dentro dos limites normais e como os níveis de IGG, IGA e IGM no soro são de ordem a não interferir nas respectivas concentrações no LCR, os valores neste encontrados para essas imunoglobulinas podem ser aceitos como representativos da normalidade. De fato, os valores obtidos para as imunoglobulinas do LCR no material estudado estão de acordo com os da literatura^{2,4,10,12,14,17,22,24,38,41,44,53,54,58,65,67,81,83,93}.

Os valores encontrados para IGG variam entre 1,55 e 3,97 mg/100 ml. Para eles a média foi 2,37 e o desvio padrão foi 0,59. Pela análise da tabela 8 verifica-se que eles estão de acordo com os obtidos pela maioria dos investigadores, independentemente dos métodos utilizados. Fazem exceção os valores obtidos mediante radioimunoensaio por Levin⁴¹. Registrou este autor para IGG o valor médio de 4,3 mg/100 ml e variações entre 2,8 e 7,5 mg/100 ml, para 22 casos. Não há variações importantes quanto aos dados obtidos nesta investigação em relação aos obtidos por imunodifusão radial, eletroimunoensaio ou imunoprecipitação. Os resultados permitem concordar com Hughes & Leibowitz²⁶, segundo os quais os valores encontrados na normalidade para IGG no LCR não ultrapassam 4 mg/100 ml. Esta conclusão decorre dos cálculos para os limites fiduciais para $t = 0,05$ que permitem estabelecer os limites de normalidade entre 1,18 e 3,56 mg/100 ml. Para UI/ml as variações decorrem entre 0,14 e 0,38.

A imunoglobulina IGA tem sido menos estudada devido à sua menor importância na avaliação de afecções do SNC. Os resultados obtidos neste estudo são comparáveis à maioria dos registrados na literatura. Assim, foram encontrados para a IGA do LCR, nos 50 casos, valores entre 0 e 0,62 mg/100 ml, com média de 0,34 e desvio padrão de 0,17 ou, em UI/ml 0,20 e 0,10, respectivamente. Também para $t = 0,05$ os valores se situam entre 0 e 0,68 mg/100 ml. Só em 2 casos o valor mínimo citado, isto é, ausência de IGA, foi registrado.

Assim sendo, a não observação de IGA pelo método de IDR é eventual no adulto e não pode ser considerada patológica.

A IGM não foi detectada em qualquer dos casos estudados. Isto pode estar relacionado à pouca precisão do método para pequenas concentrações de IGM. Pelo método da IDR nenhum autor encontrou IGM no LCR normal, sem concentração prévia. Ela só foi evidenciada por eletroimunoensaio e por imunoprecipitação. Schliep & col.⁶⁷ encontraram em 90 LCR normais valores entre 0,01 e 0,1 mg/100 ml ($0,06 \pm 0,03$) para a IGM por eletroimunoensaio. Meyer-Rienecker⁵³, utilizando imunoprecipitação combinada a imunoeletroforese chegou a resultados semelhantes. Pode-se concluir que, pela técnica de imunodifusão radial, a não observação de IGM em LCR normal não concentrado é a verificação habitual. No entanto, isto não significa a sua ausência no perfil imunológico do LCR normal pois, muito provavelmente, pode relacionar-se aos limites do método em si.

Convém notar que no material estudado não foram investigadas variações da concentração de IGG e IGA quanto a fatores endógenos (como sexo, idade e cor) dados os limites impostos pelo número de casos em função dos desvios das médias dessas imunoglobulinas.

CONCLUSÕES

Para material constituído de 50 casos suficientemente caracterizados quanto à normalidade imunobiológica é possível, em relação às imunoglobulinas do LCR da cisterna magna, estudadas por imunodifusão radial no adulto do nosso meio, concluir que:

1. A imunoglobulina IGG é encontrada sempre. A concentração normal na população estudada é representada pela média de 2,37 mg por 100 ml e desvio padrão de 0,59 ou, respectivamente 0,26 e 0,06 unidades internacionais por ml.
2. A imunoglobulina IGA é encontrada na maioria das ocasiões. A concentração normal na população estudada é representada pela média de 0,34 mg por 100 ml e desvio padrão de 0,17 ou em unidades internacionais por ml 0,20 e 0,10 respectivamente.
3. A imunoglobulina IGM não é demonstrada em condições normais pelo método empregado.

RESUMO

São revistos os principais métodos e resultados encontrados na literatura para as imunoglobulinas do líquido cefalorraqueano normal. Foram estudadas as imunoglobulinas do LCR de 50 pessoas com cefaléia crônica apresentando exame físico e neurológico normais bem como eletrencefalograma, exame do LCR por punção sub-occipital e proteinograma do soro dentro dos limites da normalidade. O estudo das imunoglobulinas foi realizado pelo método de imunodifusão radial.

Os resultados obtidos quanto as imunoglobulinas do LCR variaram entre 1,55 e 3,97 mg/100 ml ou 0,17 e 0,44 UI para a IGG; para IGA os valores encontravam-se entre 0 e 0,62 mg/100 ml ou 0 e 0,37 UI. Em todos os casos não foi detectada a presença de IGM no LCR. Na análise dos resultados foi concluído que para o LCR da cisterna magna em pessoas normais a imunoglobulina IGG é encontrada sempre com concentração média de 2,37 mg/100 ml e desvio padrão de 0,59. A imunoglobulina IGA é encontrada na maioria das ocasiões com concentração média de 0,34 mg/100 ml e desvio padrão de 0,17. A imunoglobulina IGM não é demonstrada em condições normais pelo método utilizado.

SUMMARY

Cerebrospinal fluid immunoglobulins: normal values

The most important methods and results found in literature on immunoglobulins of the normal cerebrospinal fluid (CSF) are reviewed. A study was made of immunoglobulins in the CSF of 50 individuals who suffered from chronic migraine but showed normal results for the physical and neurological examinations; electroencephalograph, CSF tests (sub-occipital puncture) and proteinogram of the serum also fell within the limits of normalcy in all of the 50 cases. The study of immunoglobulins was conducted through the radial immunodiffusion method.

Results obtained as to immunoglobulins of the CSF varied between 1,55 and 3,97 mg/100 ml, or 0,17 and 0,44 for IGG; values lay between 0 and 0,62 mg/100 ml, or 0,37 UI for IGA. Presence of IGM was not detected in any of the cases studied. Analysis of the results showed that, for the CSF of the cisterna magna in normal individuals, IGG is always found at an average concentration of 2,37 mg/100 ml and a standard deviation of 0,59. IGA is mostly found at an average concentration of 0,34 mg/100 ml and a standard deviation of 0,17. IGM is not demonstrable, under normal conditions, by the method chosen by the author.

REFERENCIAS

1. ANDERSON, S. G.; BANGHAM, D. R.; BATTY, I.; BECKER, W.; CINADER, B.; VAN DER GIESSEN, M.; HYMES, F. LONG, D.; PEETOOM, F. PONDMAN, K.; RAYNAUD, M.; REIMER, C. B.; ROWE, D. S.; SCHWICK, H. G. & VRANCHEVA, S. — Measurements of concentrations of human serum immunoglobulins. *J. clin. Path.* 25:133, 1972.
2. BAUER, H. & GOTTESLEBEN, A. — Quantitative immunochemical studies of cerebrospinal fluid proteins in relation to clinical activity of multiple sclerosis. *Int. Arch. Allergy* 36 (suppl.): 643, 1969.
3. BERNER, J. J.; CIEMINS, V. A. & SCHROEDER Jr., E. F. — Radial immunodiffusion of spinal fluid: diagnostic value in multiple sclerosis. *Amer. J. clin. Path.* 58:145, 1972.

4. BOCK, E. — Quantitation of plasma proteins in cerebrospinal fluid. *Scand. J. Immunol.* 2 (suppl. 2 (suppl. 1)):111, 1973.
5. BOCK, E., KRISTENSEN, V. & RAFAELSEN, O. J. — Proteins in serum and cerebrospinal fluid in dement patients. *Acta neurol. scand.* 50:91, 1974.
6. BROOKS, R. A. — Quantitation of cerebrospinal fluid proteins. *Amer. J. clin. Path.* 59:886, 1973.
7. BUCKLEY III, C. E. & DORSEY, F. C. — The effect of aging on human serum immunoglobulin concentrations. *J. Immunol.* 105:964, 1970.
8. BUCKLEY III, C. E. & DORSEY, F. C. — Serum immunoglobulin levels throughout the life-span of healthy man. *Ann. intern. Med.* 75:673, 1971.
9. CAZZULLO, C. L.; MONTANINI, R.; PALTRINIERI, E. & GIOVANNUCCI, M. — Il comportamento delle immunoglobuline nella sclerosi multipla. *Acta neurol. (Napoli)* 23:589, 1968.
10. CERRATO, D.; CORRIDORI, F. & NESPOLO, A. — L'immunodiffusione radiale semplice sul liquor: metodica e sue applicazioni. *Riv. Patol. nerv. ment.* 95:572, 1974.
11. CHODIRKER, W. B. & TOMASI Jr., T. B. — Gamma globulins: quantitative relationships in human serum and non vascular fluids. *Science* 112:1080, 1963.
12. CLAUSEN, J.; FOG, T. & EINSTEIN, E. R. — The clinical value of assaying proteins in the cerebrospinal fluid. *Acta neurol. scand.* 45:513, 1969.
13. COHEN, S. & BANNIESER, R. — Immunoglobulin synthesis within the central nervous system in disseminated sclerosis. *Lancet* 1:366, 1967.
14. DELANK, H. W. & WREDE, M. T. — Der klinische Wert quantitativ-immunochemischer Bestimmungen verschiedener Proteine im Liquor cerebrospinalis. *Klin. Wsch.* 47:1270, 1969.
15. DENCKER, S. J. — Quantification of individual CSF proteins by immune precipitation in agar gel. *J. Neurochem.* 16:465, 1969.
16. DENCKER, S. J. — Quantification of individual proteins by immunodiffusion. *Acta neurol. scand.* 46 (suppl. 43):238, 1970.
17. EICKHOFF, K.; WIKSTROM, J.; POSER, S. & BAUER, H. — Protein profile of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis with special reference to the function of the blood brain barrier. *J. Neurol.* 214:207, 1977.
18. FAHEY, J. L. & McKELVEY, E. M. — Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody agar plates. *J. Immunol.* 94:84, 1965.
19. FISCHER-WILLIAMS, M. & ROBERTS, R. C. — Cerebrospinal fluid proteins and serum immunoglobulins. *Arch. Neurol. (Chicago)* 25:526, 1971.
20. FOSSAN, G. O. — The transfer of IGG from serum to CSF evaluated by means of a naturally occurring antibody. *Eur. Neurol.* 15:231, 1977.
21. FOSSAN, G. O. & LARSEN, J. L. — Variation of IGG and total protein concentrations during lumbar cerebrospinal fluid collection. *Acta neurol. scand.* 57 (suppl. 67):278, 1978.

22. GLASNER, H.; WENIG, C. — Zur Pathophysiologie der Liquorimmunglobuline. *Klin. Wschr.* 51:806, 1973.
23. GRUNDBACHER, F. J. — Human X chromossome carrier quantitative genes for immunoglobulin M. *Science* 176:311, 1972.
24. HARTLEY, T. F. MERRILL, D. A. & CLAMAN, H. N. — Quantitation of immunoglobulins in cerebrospinal fluid. *Arch. Neurol.* (Chicago) 15:472, 1966.
25. HEREMANS, J. F. — Immunochemical studies on protein pathology: the immunoglobulin concept. *Clin. Chim. Acta* 4:639, 1959.
26. HUGHES, R. A. C. & LEIBOWITZ, S. — Neurological disease. *In* Holborow, E. J. & Reeves, W. G. ed. *Immunology in Medicine*. Grune & Stratton, New York, 1977, pg. 869-910.
27. HYUN, J. Standardizazion of immunoglobulin determinations. *J. Amer. med. Ass.* 229:25, 1974.
28. IRULEGUI-GOMES, I. — Estudo das Proteínas Séricas de Crianças: Eletroforese, Imunoeletroforese, Quantificação das Imunoglobulinas. Tese. Fac. Medicina, Univ. São Paulo, 1972.
29. JOHANSSON, S. G. O.; HÖGMAN, C. F. & KILLANDER, J. — Quantitative immunoglobulin determination. *Acta path. microbiol. scand.* 74:519, 1968.
30. KALFF, M. W. — A population study on serum immunoglobulin levels. *Clin. Chim. Acta* 2:8277, 1970.
31. KILLINGSWORTH, L. M. & SAVORY, J. — Automated immunochemical procedures for measurement of immunoglobulins IGG, IGA and IGM in human serum. *Clin. Chem.* 17:936, 1971.
32. KLEINE, T. O. & STROH, J. — Neue Mikroelektrophorese für nativen Lumballiquor. Unterschiede im Pherogramm von nativen und konzentrierten Proteinen. *Z. klin. Chem. klin. Biochem.* 12:73, 1974.
33. KLEINE, T. O. & STROH, J. — Fehlermöglichkeiten bei der Aufstellung von Normbereichen der Liquorproteine: Erfahrungen mit einer neuen Mikroelektrophorese für nativen Lumballiquor. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* 81:631, 1975.
34. KLEINE, T. O.; STROH, M. & STROH, J. — Vergleichende Untersuchungen zur Anreicherung von Proteinen im gepoolten Lumballiquor. *Z. klin. Chem. klin. Biochem.* 12:66, 1974.
35. KOLAR, O. J.; ROSS, A. T. & GILLIAM, H. — Serum IGG, IGA and IGM concentration in 1,038 patients with various neurological disorders. *Z. Neurol.* 203:133, 1972.
36. KOLAR, O. J.; ROSS, A. T. & HERMAN, J. T. — Serum and cerebrospinal fluid immunoglobulins in multiple sclerosis. *Neurology (Minneapolis)* 20:1052, 1970.
37. LAFFIN, R. J. — A simple immunologic method for the quantitation of immunoglobulin G in human cerebrospinal fluid. *J. Lab. clin. Med.* 76:816, 1970.
38. LATERRE, E. C. & HEULLE, H. — Résultats comparés de l'électrophorèse en agar et du dosage immunochimique des gammaglobulines du liquide céphalo-rachidien dans la sclérose en plaques. *Acta neurol. belg.* 72:240, 1972.
39. LAURELL, C. B. — Electroimmuno assay. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 29 (suppl. 124):21, 1972.

40. LEBAS, J.; ROUSSEL, P.; BISERTE, G.; ARNOTT, G.; GALLOT, P. & WAROT, T. — Etude électrophorétique et dosage des immunoglobulines du liquide céphalo-rachidien. *Lille méd.* 22:22, 1977.
41. LEVIN, A. S. FUNDENBERG, 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.
42. LINK, H. — Isolation and partial characterization of "trace" proteins and immunoglobulin G from cerebrospinal fluid. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 28:552, 1965.
43. LINK, H. — Immunoglobulin abnormalities in the Guillain-Barré syndrome. *J. neurol. Sci.* 18:11, 1973.
44. LINK, H. & MÜLLER, R. — Immunoglobulins in multiple sclerosis and infections of the nervous system. *Arch. Neurol. (Chicago)* 25:326-344, 1971.
45. LINK, H.; PARELIUS, M. SALMI, A. A. — Measles antibodies and immunoglobulins in serum and cerebrospinal fluid in subacute sclerosing panencephalitis. *Acta neurol. scand* 46 (suppl. 43):385, 1972.
46. LORD, R. A.; GOLDBLUM, R. M.; FORMAN, P. M.; DUPREE, E.; STOREY, W. D. & GOLDMAN, A. S. — Cerebrospinal fluid IGM in the absence of serum-IGM in combined immunodeficiency. *Lancet* 2:528, 1973.
47. LYNGBYE, J. & KROLL, J. — Quantitative immunoelectrophoresis of proteins in serum from a normal population: season, age and sex-related variations. *Clin. Chem.* 17:495, 1971.
48. Mac PHERSON, C. F. C. & COSGROVE, J. B. R. — An unusual IGG globulin. *Arch. Neurol. (Chicago)* 19:503, 1968.
49. MANCINI, G. CARBONARA, A. O.; HEREMANS, J. F. — Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochem.* 2:235, 1965.
50. MARAVI, E.; ARTIEDA, P.; LOPEZ-BORRASCA, A.; MARTINEZ-LAGE, J. M. — Etude immunologique des protéines du liquide céphalo-rachidien. *Rev. neurol. (Paris)* 117:586, 1967.
51. MENONNA, J.; GALANTOWICS, D.; DOWLING, P. & COOK, S. — Rapid fluorometric assay for cerebrospinal fluid immunoglobulin G. *Neurology (Minneapolis)* 27:481, 1977.
52. MERRILL, D.; HARTLEY, T. F. & CLAMAN, H. N. — Electroimmunodiffusion (EID): a simple, rapid method for quantitation of immunoglobulins in dilute biological fluids. *J. Lab. clin. Med.* 69:151, 1967.
53. MEYER-RIENECKER, H. — Grundlagen und Anwendung der Immunelektrophorese des Liquor cerebrospinalis. *Psychiat. Neurol. u. med. Psychol.* 28:577, 1976.
54. MONARI, M.; GALVEZ, S. & FARCAS, A. — Cerebrospinal fluid and serum immunoglobulins and C₃ levels in 30 intracranial tumors. *Neurocirurgia (Santiago)* 36:75, 1978.
55. MUSIANI, P.; GIOVANINI, G. & POZZUOLI, R. — Modificazioni delle immunoglobuline liquorali in corso di sclerose multipla. *Riv. Patol. nerv. ment.* 90:99, 1969.
56. OXELIUS, V. A.; RORSMAN, H. & LAURELL, A. B. — Immunoglobulins of cerebrospinal fluid in syphilis. *Brit. J. ven. Dis.* 45:121, 1969.

57. PALTRINIERI, E. — Studio immunoelettroforetico delle proteine sieriche e liquorali nella sclerosi multipla. *Acta neurol. (Napoli)* 22:216, 1967.
58. PALTRINIERI, E. — La concentrazione delle immunoglobuline A nel liquido cerebrospinale del soggetto normale. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* 44:1064, 1968.
59. PALTRINIERI, E. & CANGER, R. — Alcuni dati biochimici serici e liquorali in un caso di leucoencefalite sclerosante subacuta. *G. Psichiat. Neuropat.* 96:717, 1968.
60. ROSE, N. R. — Immunology in clinical chemistry. *Clin. Chem.* 17:573, 1971.
61. ROWE, D. S.; ANDERSON, S. G. & FAHEY, J. L. — A reference preparation for human serum immunoglobulins. *J. Immunol.* 102:792, 1969.
62. ROWE, D. S.; ANDERSON, S. G. & GRAB, B. — A research standard for human serum immunoglobulins IGG, IGA and IGM. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 42:535, 1970.
63. SANDBERG-WOLLHEIM, M. — Immunoglobulin synthesis in vitro by cerebrospinal fluid cells in patients with multiple sclerosis. *Scand. J. Immunol.* 3:717, 1974.
64. SANDBERG-WOLLHEIM, M. — Immunoglobulin synthesis in vitro by cerebrospinal fluid cells in patients with meningo-encephalitis of presumed viral origin. *Scand. J. Immunol.* 4:607, 1975.
65. SAVORY, J. & HEINTGES, M. G. — Cerebrospinal fluid levels of IGG, IGA and IGM in neurologic diseases. *Neurology (Minneapolis)* 23:953, 1973.
66. SAVORY, J.; HEINTGES, M. G.; KILLINGSWORTH, L. M. & POTTER, J. M. — Manual and automated determination of immunoglobulins in unconcentrated cerebrospinal fluid. *Clin. Chem.* 18:37, 1972.
67. SCHLIEP, G.; RAPIC, N. & FELGENHAUER, K. — Quantitation of high-molecular proteins in cerebrospinal fluid. *Z. klin. Chem. klin. Biochem.* 12:367, 1974.
68. SCHUR, P. H. — Human gamma-G subclasses. In Schwartz R. S., ed. — *Progress in Clinical Immunology*. Grune & Stratton, New York, 1976, pg. 71-104
69. SIMMONS, P. — Quantitation of plasma proteins in low concentrations using RID. *Clin. Chim. Acta* 35:53, 1971.
70. SPINA-FRANÇA, A. — Eletroforese em papel das proteínas do líquido cefalorraquidiano: Valores normais. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 18:19, 1960.
71. SPINA-FRANÇA, A. — Líquido cefalorraqueano. In Tolosa, A. & Canelas, H. M. — *Propedêutica Neurológica*. Ed. Fundo Editorial Proclenx. Ed. 2, São Paulo, 1971, pg. 443-465.
72. SPINA-FRANÇA, A.; LIVRAMENTO, J. A. & BACHESCHI, L. A. — Gama-globulinorraquia e o aspecto auto-imune de afecções do sistema nervoso. *Resumos. VI Congresso Brasileiro de Neurologia (Rio de Janeiro):*13-15, 1974.
73. SPINA-FRANÇA, A.; LIVRAMENTO, J. A.; BACHESCHI, L. A. & GARCIA-LOPES, P. — Cerebrospinal fluid immunoglobulins in cysticercosis of the central nervous system. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 34:40, 1976.
74. STIEHM, E. R. & FUDENBERG, H. H. — Serum levels of immune globulins in health and disease: a survey. *Pediatrics* 37:715, 1966.
75. STOOP, J. W.; ZEGERS, B. J. M.; SANDER, P. C. & BALLIEUX, R. E. — Serum immunoglobulin levels in healthy children and adults. *Clin. exp. Immunol.* 4:101, 1969.

76. STÖRIKO, K. — Normal values for 23 different human plasma proteins determined by single radial immunodiffusion. *Blut* 16:200, 1968.
77. STÖRIKO, K. — The diagnostic significance of the immunochemical determination of plasma proteins. *Med. Lab.* 2:1, 1977.
78. TAVOLATO, B. — Sclerosi multipla: le immunoglobuline del sistema nervoso centrale. *Riv. Patol. nerv. ment.* 95:363, 1974.
79. TAVOLATO, B. & ZANCHE, L. — The IGD in the cerebrospinal fluid. *Acta neurol. scand.* 44:384, 1968.
80. TAVOLATO, B. & ZANCHE, L. — Le anomalie del precipitato dell'immunoglobulina G (IGG) nel liquor. *Acta neurol (Napoli)* 23:795, 1968.
81. TAVOLATO, B. & ZANCHE, L. — Determinazione immunochimica della immunoglobulina G (IGG) nel liquor. *Riv. sper. Freniat.* 93:781, 1969.
82. TOURTELLOTTE, W. W. — On cerebrospinal fluid immunoglobulin G (IGG) quotients in multiple sclerosis and other diseases. *J. neurol. Sci.* 10:279, 1970.
83. TOURTELLOTTE, W. W. & PARKER, J. A. — Multiple sclerosis: correlation between immunoglobulin-G in cerebrospinal fluid and brain. *Science* 154:1044, 1966.
84. TOURTELLOTTE, W. W.; PARKER, J. A.; HERNDON, R. M., CUADROS, C. V. — Subacute sclerosing panencephalitis: brain immunoglobulin-G, measles antibody and albumin. *Neurology (Minneapolis)* 18:117, 1968.
85. TOURTELLOTTE, W. W.; TAVOLATO, B.; PARKER, J. A. & COMISO, P. — Cerebrospinal fluid electroimmunodiffusion. *Arch. Neurol. (Chicago)* 25:345, 1971.
86. TOURTELLOTTE, W. W.; TAVOLATO, B. A.; PARKER, J. A.; WALKER, J. E. & COMISO, P. C. — Eletroimmunodifusion: a simple, rapid, reliable, and valid method for the simultaneous determination of cerebrospinal fluid and serum immunoglobulin-G and albumin. *Trans. neurol. Ass.* 95:323, 1970.
87. TURNER, M. W. — The immunoglobulins. In Holborow, E. J. & Reeves, W. G., ed. — *Immunology in Medicine*. Grune & Stratton, New York, 1977, pg. 83-129.
88. UDEOZO, I. O. K.; BEZER, A. E.; OSUNKOYA, B. O.; ANOMAHNGU, V.; LUZZATTO, L. & McFARLANE, H. — Cerebrospinal fluid immunoglobulins in Burkitt lymphoma. *J. Lab. clin. Med.* 71:912, 1968.
89. UFFELMAN, J. A.; ENGELHARD, W. E. & JOLLIFF, C. R. — Quantitation of immunoglobulins in normal children. *Clin. Acta* 28:185, 1970.
90. WADSWORTH, C. — Technique for Expanding Characterization and Quantitation of Proteins, Especially Human Immunoglobulins. Tese. Fac. Medicina Univ. Göteborg, 1978.
91. WEISNER, B. — Gleichzeitige Bestimmung von Immunglobulin G und Albumin Ventrikelliquor und Serum. *Nervenarzt* 48:684, 1977.
92. WEISNER, B. & BERNHARDT, W. — Protein fractions of lumbar, cisternal and ventricular cerebrospinal fluid. *J. neurol. Sci.* 37:205, 1978.
93. WEISNER, B.; SCHNEIDLER, R. & BERNHARDT, W. — Immunoglobuline A, G und M in lumbal entnommenem Liquor cerebrospinalis. *Nervenartz* 46:532, 1975.