

PROTEÍNA BÁSICA DE MIELINA NO LÍQUIDO CEFALORRAQUEANO NA NEUROCISTICERCOSE

*J. A. LIVRAMENTO **
*L. R. MACHADO **
*J. N. WHITAKER ***
*A. SPINA-FRANÇA ****

As propriedades antigênicas do sistema nervoso central (SNC) são melhor estabelecidas em relação à mielina encefalitogênica, isto é, à proteína básica de mielina (PBM). Ela participa da composição da mielina, que é constituída de aproximadamente 70% de lipídeos e 30% de proteínas. Estas são representadas por proteolipídeos, pela proteína ácida de Wolfgram e pela PBM a qual constitui cerca de 30% do total proteico. Apresenta um peso molecular de 18.500 sendo formada por sequência de 169 aminoácidos, clivável por proteinase ácida em 3 fragmentos 1-42, 43-88 e 88-169, tendo meia-vida de 21 dias a 3 meses. O segundo fragmento 43-88 apresenta maior importância devido ao seu papel antigênico^{1-4,8,9}. Os estudos da PBM ganharam importância nesta última década sobretudo nos processos autoimunes do sistema nervoso central (SNC)¹⁶⁻²¹. Do ponto de vista neuroimunológico aproxima-se a neurocisticercose de doenças autoimunes, como a esclerose múltipla. No ambiente oligotraumático ocupado pelo SNC, as vesículas de cisticercos encontram condições para sobrevivência média de 3 a 6 anos, maior que para aquelas localizadas na tela subcutânea e músculos. A liberação dos heteroantígenos a partir das vesículas tende a aumentar quando nelas tornam-se patentes fenômenos degenerativos que precedem a morte do parasita^{5,6,10-12}. A vitalidade do parasita varia de uma vesícula para outra e com ela a intensidade de liberação de heteroantígenos. Macromoléculas próprias ao SNC formam complexos ou não com o heteroantígeno tornando-se imunocompetentemente hábeis, podendo resultar produção local de anticorpos capazes de danificar as próprias estruturas do SNC. Esta resposta imune local, que obedece a modelo crônico repetitivo, já foi descrita na neurocisticercose tal como na esclerose múltipla^{7,13-15}.

O objetivo deste trabalho é a análise do líquido cefalorraqueano (LCR) de pacientes com neurocisticercose comparando-o com os de outras afecções do SNC e com um grupo controle de amostras normais, para verificar o teor de PBM.

Trabalho do Centro de Investigações em Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) e do Department of Neurology, Center for the Health Sciences, University of Tennessee, Memphis, USA (CHSUT): * Médico Assistente; ** Professor of Neurology and Chairman (CHSUT); *** Professor Titular de Neurologia (FMUSP).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 133 amostras de LCR provenientes de 115 pacientes com afecções do SNC para verificar o teor da PBM. Os 115 casos acham-se subdivididos de acordo com o diagnóstico nosológico (Tabela 1). Nos casos de neurocisticercose de 51 a 62 mais que uma amostra de LCR foi analisada: 4 amostras nos casos 51 e 52; 3 nos casos 53 e 54; 2 nos casos 55 a 62. Nos restantes casos do grupo e dos demais grupos foi analisada apenas uma amostra de LCR. Nos estudos feitos nas amostras de LCR são analisados: número de células por mm³; perfil citomorfológico (%) quando o número de leucócitos era maior que 3 por mm³; as concentrações (mg/dl) de proteínas totais e glicose; as frações proteicas (%) por eletroforese de proteínas em gel de acetato de celulose; reações de fixação do complemento para sífilis e para cisticercose; reações de imunofluorescência para sífilis (FTA-Abs) e para cisticercose. Parte de cada amostra (2 ml) foi centrifugada e congelada a -20°C para o estudo da PBM. Este foi feito por um de nós (J. N. Whitaker) no laboratório do Veterans Administration Medical Center, Memphis, USA. Cada amostra foi analisada em duplicata, em uma ou mais ocasiões por método de radioimunoensaio com um duplo anticorpo para detectar a presença de material antigênico que reagisse cruzadamente com o peptídeo 43-88, parte da cadeia da PBM. A análise foi feita por método descrito anteriormente (1,19,20).

Casos	Diagnóstico
1 - 50	Cefaléia crônica
51 - 95	Neurocisticercose
96 - 103	Esclerose múltipla
104 - 106	Panencefalite esclerosante subaguda
107 - 109	Neurossífilis
110 - 111	Leucemia aguda linfocítica
112	Herpes zóster
113	Neurotuberculose
114	Neuroesquistossomose, forma medular
115	Mieloma tipo IGG com acometimento do SNC

Tabela 1 — Diagnóstico dos 115 casos estudados.

RESULTADOS

Os resultados quanto a teores de PBM de todas as amostras analisadas encontram-se na tabela 2. Amostras com menos de 1 ng/ml de PBM são consideradas negativas para a sensibilidade do método utilizado. Constam da tabela 3 os dados da análise do LCR nos casos com PBM igual ou acima de 1,0 ng/ml.

Casos	Diagnóstico	Proteína básica de mielina
1 - 50	Cefaléia crônica	< 1,0
51 - 95	Neurocisticercose	< 1,0
	exceto:	
72		1,4
73		1,0
74		8,0
90		2,3
96 - 103	Esclerose múltipla	< 1,0
	exceto:	
99		1,0
100		1,4
102		2,5
104 - 106	Panencefalite esclerosante subaguda	< 1,0
107 - 109	Neurossífilis	< 1,0
110 - 111	Leucemia aguda linfocítica	< 1,0
112	Herpes zóster	< 1,0
113	Neurotuberculose	< 1,0
114	Neuroesquistossomose, forma medular	2,9
115	Mieloma tipo IGG	< 1,0

Tabela 2 — Concentração de PBM (ng/ml) no LCR dos 115 casos estudados.

Caso	Cit/mm ³	Citomorfologia (%)								Prot Glic (mg/dl)	Frações proteicas (%)					RFC	RIF	PBM (ng/ml)		
		L				RM					PA	A	a-1	a-2	b				t	g
		L	RM	PL	MF	N	EO													
Neurocisticercose:																				
72	3,7	57	36	2	5				115	57						8	R	1,4		
73	1,0								180	53						128	R	1,0		
74	270	48	32	1	2	14	3	34	66	66	5,1	58,0	3,2	4,8	9,5	2,4	17,0	32	R	8,0
90	13	47	42		8	3		140	78	78	2,2	58,0	4,3	6,0	6,8	6,0	16,7	32	R	2,3
Esclerose múltipla																				
99	6,0	59	36	3	2			32	63	63	6,4	53,0	4,0	6,4	5,8	4,1	20,3	0	NR	1,0
100	15	68	28	2	2			40	71	71	3,6	54,0	3,2	5,4	9,1	5,3	19,4	0	NR	1,4
102	0,7							30	60	60	5,3	43,0	2,5	4,6	6,8	5,3	32,5	0	NR	2,5
Neuroesquistossomose:																				
114	61	62	30	4	2	2		74	53	53	2,9	54,0	4,4	7,1	14,2	5,5	11,9	0	NR	2,9

Tabela 3 — Líquido cefalorraqueano. Número de células (Cit/mm³), citomorfologia (L, linfócitos; RM, reticulomonócitos; PL, plasmócitos; MF, macrófagos; N, neutrófilos; EO, eosinófilos), proteínas totais (Prot), glicose (Glic), frações proteicas (PA, pré-albumina; A, albumina; a-1, alfa-1; a-2, alfa-2; b, beta; t, tau; g, gama); reação de fixação do complemento (RFC, resultados em unidades Kolmer) e reação de imunofluorescência (RIF, resultados: R, reagente; NR, não-reagente) para cisticercose; proteína básica de mielina (PBM) nos casos em que esta apresentava concentração acima de ≥ 1 ng/ml.

COMENTARIOS

A dificuldade dos métodos para a verificação da PBM no LCR deve-se sobretudo à pequenas quantidades em que ela é observada naqueles pacientes em que existe agressão imunológica no SNC. Dentro dos vários métodos existentes^{3,4,8} o de Whitaker e col.^{1,19,20} é o que dosa o fragmento P1, 43-88 da PBM, que apresenta maior antigenicidade. Comparando-se os valores encontrados para este fragmento P1 notamos que eles são menores em relação a outros autores que dosam toda a molécula da PBM^{3,4,8,17}.

Ao estudar o LCR de 115 pacientes com afecções do SNC teve-se o cuidado de fazer adequada seleção do grupo controle, constituído por 50 pacientes que foram submetidos a exame do LCR por apresentarem cefaléia crônica. Deve ser salientado que todos os parâmetros do LCR desses 50 pacientes analisados encontravam-se dentro dos limites da normalidade. De acordo com os resultados obtidos nesse grupo controle, todas as amostras de LCR apresentavam valor menor que 1 ng/ml quanto ao fragmento P1, 43-88 da PBM. Este dado reafirma a observação de outros autores que estudaram a PBM em grupos controles de amostras de LCR consideradas normais^{1,3,18,21}. Assim, no LCR normal não existe PBM ou ocorre em pequenas quantidades que não são detectadas por métodos existentes até a atualidade. Nos demais pacientes (65 casos) estudados salientam-se pelos resultados obtidos os casos de esclerose múltipla (96-103), de neurocisticercose (51-95) e o de neuroesquistossomose, forma medular (caso 114).

Como era de se esperar nos casos de esclerose múltipla, de 8 estudados, 3 apresentavam valores detectáveis no LCR da PBM fragmento P1. Todas as amostras de LCR apresentavam características compatíveis ao diagnóstico, isto é, pleocitose ligeira ou discreta, com a presença de células mononucleares, aumento ligeiro da concentração proteica, aumento moderado do teor de globulinas gama por vezes com a verificação de bandas oligoclonais na eletroforese de proteínas. Dos três casos em que havia PBM, dois apresentavam bandas oligoclonais (casos 100 e 102). Os achados quanto aos teores da PBM encontram-se de acordo com o restante da literatura^{1,3,18,21}.

Na neurocisticercose, doença inflamatória crônica do SNC que apresenta vários parâmetros neuroimunológicos bem definidos através do estudo do LCR^{5,6,13-15}, até o presente momento não havia sido demonstrada a presença da PBM no LCR. Dos 44 casos estudados (casos 51 a 95) salienta-se a presença de PBM, fragmento P1, em 4. Em todos eles já havia dano imunológico severo no SNC, evidenciado pelo LCR, quanto ao dual citoproteico. Três apresentavam hiperproteínoorraquia moderada e, também, títulos elevados de anticorpos detectados através da reação de fixação do complemento para cisticercose. Deve ser enfatizada, portanto, a presença da PBM neste tipo de afecção dado seu caráter crônico repetitivo, com danos imunológicos severos para o SNC.

O caso 114 com diagnóstico de neuroesquistossomose, forma medular, outra doença inflamatória do SNC, também apresentou valor elevado de PBM no

LCR (2,9 ng/ml). Também é a primeira vez que tal evidência é registrada na literatura. Os fenômenos neuroimunológicos verificados na afecção são similares aos observados em doenças inflamatórias de tipo crônico do SNC.

Nos demais casos estudados não houve detecção da presença de PBM. Deles, salientam-se os casos de neurosífilis (107-109) e os de panencefalite esclerosante subaguda (104-106) em que outros investigadores encontraram PBM no LCR 3,8,20,21. O fulcro do trabalho é abrir novas perspectivas quanto ao estudo de fenômenos neuroimunológicos detectáveis através do LCR, nas moléstias inflamatórias crônicas do SNC. Além dos fenômenos imunológicos desencadeados pelo heteroantígeno podem associar-se aqueles por autoantígenos, como é sugerido pela detecção de PBM e aplicando-se os mesmos princípios de raciocínio adotados para a esclerose múltipla.

RESUMO

Foram estudadas 133 amostras de LCR provenientes de 115 pacientes para verificar o teor da PBM, fragmento P1 43-88. Os casos foram subdivididos em subgrupos de acordo com o diagnóstico nosológico. No grupo controle (50 casos de pacientes com cefaléia crônica) não houve detecção de PBM em qualquer das amostras; dos casos de neurocisticercose (44), em 4 havia presença da PBM; nos de esclerose múltipla (8) em três havia PBM; em um caso de neuroesquistossomose, forma medular, também foi detectada a presença da PBM. Considerações de ordem neuroimunológica são tecidas sobre os resultados encontrados.

SUMMARY

Myelin basic protein in cerebrospinal fluid of patients with neurocysticercosis.

Cerebrospinal fluid (CSF) from 115 patients with several neurological disorders were tested for the presence of myelin basic protein (MBP), fragment P1 43-88. Cases were divided into groups according to neurological diagnosis. The control group (50 patients with chronic headache) presented normal CSF composition and presented no evidence of the presence of MBP. MBP was found in: four cases of the 44 of neurocysticercosis; three of the 8 cases of multiple sclerosis; one case of schistosomiasis with spinal cord involvement. Neuroimmunological data are discussed considering results found in this investigation.

REFERÊNCIAS

1. BASHIR, R.M. & WHITAKER, J.N. — Molecular features of immunoreactive myelin basic protein in cerebrospinal fluid of persons with multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 7:50, 1980.
2. BRINKMAN, C.J.J.; LAAK, H.J. & HOMMES, O.R. — Influence of cerebroside and ganglioside on the encephalitogenic activity of myelin basic protein in guinea pigs. *Acta neurol. scand.* 67:143, 1983.

3. COHEN, S.R.; BROOKS, B.R.; HERNDON, R.M. & MCKHANN, G.M. — A diagnostic index of active demyelination: myelin basic protein in cerebrospinal fluid. *Ann. Neurol.* 8:25, 1980.
4. GÓRNY, M.K.; WRÓBLEWSKA, Z.; PLEASURE, D.; MILLER, S.L.; WAJGT, A. & KOPROWSKI, H. — CSF antibodies to myelin basic protein and oligodendrocytes in multiple sclerosis and other neurological diseases. *Acta neurol. scand.* 67:338, 1983.
5. LIVRAMENTO, J.A. — Contribuição de reações de imunofluorescência no líquido cefalorraqueano ao estudo da neurocisticercose. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 39:261, 1981.
6. LIVRAMENTO, J.A. & SPINA-FRANÇA, A. — Síndrome do líquido cefalorraqueano na neurocisticercose. *Arq. bras. Neurocir.* 1:59, 1982.
7. MELARAGNO FILHO, R.; LIMONGI, J.C.P. & ROSEMBERG, S. — Esclerose múltipla. *In* R. Melaragno Filho & C.K. Naspitz (eds.): *Neuroimunologia*. Sarvier, São Paulo, 1982, pg. 169.
8. PANITCH, H.S.; HOOPER, C.J. & JOHNSON, K.P. — CSF antibody to myelin basic protein. Measurement in patients with multiple sclerosis and subacute sclerosing panencephalitis. *Arch. Neurol.* 37:206, 1980.
9. RABINOWITZ, S.G.; DAY, E.D.; PATERSON, P.Y. & KOENIG, H. — Endogenous myelin basic protein-serum factors (MBP-SFS) and anti-MBP antibodies in a patient with post-herpes simplex virus acute disseminated encephalomyelitis. *J. neurol. Sci.* 60:393, 1983.
10. SPINA-FRANÇA, A. — Aspectos biológicos da neurocisticercose: alterações do líquido cefalorraqueano. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 20:17, 1962.
11. SPINA-FRANÇA, A. — Imunobiologia da cisticercose: avaliação dos conceitos atuais. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 27:125, 1969.
12. SPINA-FRANÇA, A. — Peculiaridades imunológicas do sistema nervoso central. *In* R. Melaragno Filho & C.K. Naspitz (eds.): *Neuroimunologia*. Sarvier, São Paulo, 1982, pg. 67.
13. SPINA-FRANÇA, A. — Neurocisticercose e neuroimunologia. *J. bras. Med.* 45 (supl.): 7, 1983.
14. SPINA-FRANÇA, A. & LIVRAMENTO, J.A. — Cerebrospinal fluid immunobiology in neurocysticercosis. *Eur. rev. med. pharm. Sci.* 4:385, 1982.
15. SPINA-FRANÇA, A.; NOBREGA, J.P.S.; LIVRAMENTO, J.A. & MACHADO, L.R. — Administration of praziquantel in neurocysticercosis. *Tropenmed. Parasit.* 33:1, 1982.
16. THOMAS, D.G.T.; HOYLE, N.R. & SEELDRAYERS, P. — Myelin basic protein immunoreactivity in serum of neurosurgical patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 47:173, 1984.
17. TROTTER, J.L.; WEGESCHEIDE, C.L. & GARVEY, W.F. — Immunoreactive myelin proteolipid protein-like activity in cerebrospinal fluid and serum of neurologically impaired patients. *Ann. Neurol.* 14:554, 1983.
18. WAJGT, A. & GÓRNY, M. — CSF antibodies to myelin basic protein and to myelin associated glycoprotein in multiple sclerosis. Evidence of the intrathecal production of antibodies. *Acta neurol. scand.* 68:337, 1983.
19. WHITAKER, J.N. — Myelin encephalitogenic protein fragments in cerebrospinal fluid of persons with multiple sclerosis. *Neurology* 27:911, 1977.
20. WHITAKER, J.N.; LISAK, R.P.; BASHIR, R.M.; FITCH, O.H.; SEYER, J.M.; KRANCE, R.; LAWRENCE, J.A.; CHIEN, L.T. & O'SULLIVAN, P. — Immunoreactive myelin basic protein in the cerebrospinal fluid in neurological disorders. *Ann. Neurol.* 7:58, 1980.
21. WILKERSON, L.D.; LISAK, R.P.; ZWEIMAN, B. & SILBERBERG, D.H. — Antimyelin antibody in multiple sclerosis: no change during immunosuppression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 40:872, 1977.