

ESTUDO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA CREATINOFOSFOQUINASE E ALDOLASE EM PACIENTES COM TÉTANO

Walter TAVARES (1), J. Carlos SADDY (2), Maria Elmira M. ALFRADIQUE (3)
e Luís Armando M. FRIAS (4)

RESUMO

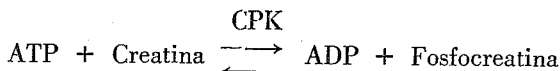
Os Autores determinaram a atividade sérica da creatinofosfoquinase (CPK) e aldolase em pacientes com tétano não-umbilical. Encontraram elevação significativa do nível sérico das enzimas. Em alguns casos ocorreu elevação da aldolase sem aumento concomitante da CPK. Em geral os níveis da CPK elevaram-se mais que os da aldolase. Verificaram que a elevação das enzimas está relacionada às formas graves da doença, principalmente a creatinofosfoquinase. A análise estatística confirma os resultados. São feitas considerações sobre os mecanismos de liberação das enzimas pelas células.

INTRODUÇÃO

Na literatura mundial sobre o tétano são poucos os trabalhos dedicados ao estudo das alterações enzimáticas que ocorrem na doença. Tal fato é, de certa forma, surpreendente, tendo em vista tratar-se de doença de alta gravidade, com uma série de manifestações de natureza tóxica, infecciosa e anóxica, capaz de causar lesão celular.

(CPK) e aldolase. Em trabalho que estamos desenvolvendo, pretendemos estudar as alterações musculares observadas na doença.

A CPK é uma enzima pertencente ao grupo das quinases, enzimas que catalizam a transferência de grupos fosfato entre compostos adenílicos e outras moléculas¹. A CPK cataliza a seguinte reação:



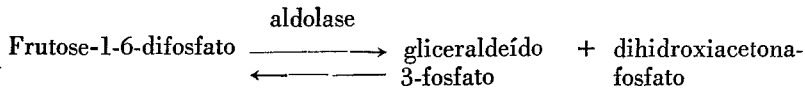
O tétano é caracterizado do ponto de vista clínico, pela presença de hipertonia muscular mantida e contraturas paroxísticas. Sendo o músculo o principal órgão de choque da moléstia, é de interesse verificar as alterações metabólicas e anatômicas que aí ocorrem. Nesta comunicação queremos nos referir às alterações séricas da creatinofosfoquinase

Há armazenamento de energia quando a reação se faz da esquerda para direita; liberação de energia, quando da direita para esquerda. A CPK é encontrada principalmente nos músculos esqueléticos (2000 U/g de proteína) e coração (670 U/g de proteína), sendo desprezível em outros órgãos⁴.

Trabalho dos Departamentos de Medicina Clínica e Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense

- (1) Professor Assistente da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Departamento de Medicina Clínica, Caixa Postal 1075, Icaraí, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil
- (2) Professor Titular da Disciplina de Patologia Geral e Fisiopatologia do Departamento de Patologia
- (3) Médica Residente da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias
- (4) Auxiliar de Ensino de Estatística do Instituto Presidente Castelo Branco (Fundação Oswaldo Cruz)

A aldolase (frutose-difosfato-aldolase) é uma enzima pertencente ao grupo das liases, enzimas que catalizam a adição ou remoção de um dado grupamento químico a um substrato, sem haver hidrólise, oxidação ou redução, sendo o grupo em questão liberado em estado livre¹. A aldolase cataliza a clivagem reversível da hexose-difosfato em triose-difosfato:



Tal reação é de grande importância no metabolismo anaeróbio dos carboidratos. A aldolase está presente em todos os tecidos, mas é pequena sua concentração sérica.

Elevações dos níveis séricos da aldolase e CPK têm sido descritas em várias doenças. SIBLEY & col.¹¹ e VOLK & col.¹⁴ referem que em pacientes com neoplasias malignas e infarto agudo do miocárdio, a aldolase sérica está elevada, havendo relato de atividade aumentada desta enzima em outras condições como infarto pulmonar, pancreatite hemorrágica, pneumonia grave, hepatite aguda, queimaduras, distrofia muscular^{13, 14}. Por outro lado, a elevação da CPK sérica tem sido relatada em pacientes que apresentam patologias relacionadas ao sistema muscular: distrofia muscular, leptospirose e outros distúrbios neuro-musculares^{2, 3, 8, 10, 12}.

Níveis elevados de CPK e aldolase já foram relatados em pacientes com tétano^{5, 7, 9}. No entanto, PATEL & RAO⁹ não encontraram concentrações elevadas da CPK em 14 pacientes, incluindo casos graves. O presente trabalho tem por finalidade avaliar os níveis séricos destas enzimas em pacientes com tétano em nosso meio, bem como relacionar as alterações encontradas com a gravidade da doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 36 pacientes com tétano não-umbilical internados no Setor de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Antonio Pedro (Univ. Fed. Fluminense). Os pacientes tiveram o diagnóstico clínico baseado nas manifestações características da doença. Todos foram subme-

tidos à terapêutica com soro antitetânico, antibióticos (penicilina), miorelaxante ("Tolserol") e sedativos ("Valium").

A colheita de sangue para as dosagens enzimáticas foi realizada no período de estado do tétano, em geral na primeira semana de internação e na maioria dos casos dentro dos dez primeiros dias da doença. O sangue foi logo levado ao laboratório ou se-

parado o soro e este conservado sob refrigeração pelo prazo máximo de 5 dias. As amostras que apresentaram hemólise foram desprezadas a fim de se evitar elevações falsas da aldolase, a qual está presente nas hemácias. Em quatro pacientes foram realizadas duas dosagens enzimáticas e em um procedeu-se a uma terceira dosagem.

Os pacientes foram classificados em três formas clínicas, de acordo com o critério de gravidade de MOLLARET & col.⁶. Fizemos, no entanto, o agrupamento dos casos de tétano grave e gravíssimo da classificação referida, dentro do critério grave. Assim, os pacientes com tétano benigno apresentavam hipertonia muscular generalizada, não havendo contraturas paroxísticas ou acometimento importante da dinâmica ventilatória; os pacientes com tétano grave apresentavam hipertonia muscular generalizada, espasmos de intensidade e frequência variável, disfagia e diminuição da dinâmica ventilatória.

A creatinofosfoquinase foi determinada pelo método de OKINAKA & col.¹², no qual a creatina é convertida em fosfocreatina e o trifosfato de adenosina em difosfato de adenosina. A fosfocreatina é hidrolisada a creatina e fosfato inorgânico e este medido colorimetricamente. Os valores normais da CPK no soro humano, determinados por HESS & col.² situaram-se em geral abaixo de 8 Unidades, mas de acordo com o SIGMA TECHNICAL BULL¹² consideramos o valor normal entre 0 e 12 U Sigma.

A aldolase foi determinada pelo método de Sibley e Lehninger modificado, apresentado no SIGMA TECHNICAL BULL n.º 750¹³, segundo o qual se determina a quantidade de trioses produzidas e se relaciona à aldo-

lase presente no soro. O valor normal está situado abaixo de 8 U Sibley-Lehninger^{11, 13}.

A CPK foi dosada em 36 pacientes e a aldolase em 30. Do total de pacientes, 26 eram do sexo masculino e 10 do sexo feminino. Vinte e três pacientes tinham mais de 15 anos e 13 eram crianças. Quanto ao foco de infecção, 27 doentes referiram traumatismos de natureza diversa, 3 apresentaram foco uterino, 2 eram portadores de úlcera crônica de perna e 4 tiveram foco ignorado.

RESULTADOS

Na Tabela I resumimos os resultados das dosagens enzimáticas, bem como a gravidade dos casos, a intensidade das contraturas paroxísticas, a evolução e a época em que foram realizadas as determinações laboratoriais. Na Tabela II são apresentados os resultados das dosagens múltiplas em 4 pacientes. Verifica-se nesta tabela que um dos pacientes (n.º 1818) teve o nível de CPK aumentado ao ser repetido o exame três dias após a primeira dosagem. Observa-se, ainda, que um paciente (n.º 1686) manteve níveis elevados das enzimas por 31 dias.

A observação das Tabelas I e II nos mostra que a creatinofosfoquinase esteve elevada (maior que 12 U Sigma) em 21 pacientes (58,3%) e em níveis normais em 15. A aldolase esteve elevada (maior que 8 U Sibley-Lehninger) em 24 pacientes (80%) e em níveis normais em 6. Procedemos à análise estatística destes resultados, comparativamente aos valores normais das enzimas, referidos por HESS & col.² e SIBLEY & col.¹¹. O teste do quiquadrado aceita a hipótese de que a elevação da CPK e aldolase são dependentes da infecção tetânica, a um nível de significância de 5% (Tabelas III e IV).

A análise da Tabela I revela que na maioria dos casos o comportamento de ambas as enzimas é harmônico, havendo sua elevação concomitante em 17 casos e níveis normais em 6 casos. Nota-se que em 6 pacientes houve aumento de aldolase sem a correspondente elevação da CPK e somente em 1 caso ocorreu o inverso. Os valores anormais das enzimas foram variáveis, sendo os limites máximos de 740 U para a CPK e 375 U para aldolase. Pode-se observar, porém, que

a alteração dos níveis da aldolase é menos importante que da CPK. Dos 24 pacientes que mostraram taxas elevadas da aldolase, 10 (41,6%) apresentaram aumento discreto (9 a 13 U), enquanto que dos 21 pacientes com CPK aumentada, 6 (28,5%) tiveram valores pouco maiores que o normal (12 a 20 U).

Os resultados apresentados na Tabela I, demonstram, ainda, que valores elevados de CPK e aldolase estiveram presentes tanto em pacientes com formas graves da doença como nos casos benignos e vice-versa. Realizamos o estudo da relação entre a gravidade do tétano e as concentrações séricas das enzimas (Tabelas V e VI). O exame da Tabela V sugere que existe relação direta entre a gravidade do tétano e a elevação da CPK no soro. Observa-se que a maioria dos casos graves teve níveis altos da enzima, enquanto que a maioria dos benignos apresentou níveis normais. A análise estatística, pelo teste exato de Fisher, confirma a hipótese de que existe relação entre os níveis séricos de CPK e a forma clínica, a um nível de significância de 5% ($P \leq 0,000169$). Na Tabela VI, por outro lado, verifica-se que os níveis elevados da aldolase preponderaram tanto na forma grave como na benigna. A análise estatística, pelo teste exato de Fisher, porém, aceita que também quanto à aldolase existe relação entre a elevação da enzima e a gravidade da doença ($P \leq 0,0022$).

COMENTARIOS

Sendo o tétano doença que se manifesta por intensa atividade muscular, acompanhada por fenômenos anóxicos e distúrbios metabólicos, não surpreende que os níveis séricos da aldolase e CPK encontrem-se elevados. MULLAN & DUBOWITZ⁷ comentam que o nível elevado dessas enzimas no tétano está relacionado com a rigidez muscular e os espasmos. Citam trabalhos de CIACCHERI & col. e MACH & col., onde altos níveis de aldolase estão relacionados a formas fatais, enquanto nas formas benignas a aldolase está normal ou pouco elevada. PATEL & RAO⁹ encontram, também, elevação da aldolase em tetânicos que apresentam espasmos, estando normal a atividade sérica desta enzima quando não ocorrem os espasmos. Estes Autores,

TABELA I

Distribuição dos casos de tétano e valores de CPK e aldolase

Registro	Gravidade	Espasmo	Dias de doença	Valor de CPK (U. Sigma)	Valor de aldolase (U. Sibley-Lehn.)	Evolução
1686	grave	forte	11	63	14	cura
1687	grave	forte	3	15	9	óbito
1699	benigno	—	9	11,5	4	cura
1701	grave	forte	10	23	10	cura
1703	benigno	—	3	11,5	—	cura
1711	grave	forte	3	35	12	cura
1715	grave	subent.	2	366	375	óbito
1727	grave	forte	7	6,3	10	cura
1740	benigno	—	11	19	9	cura
1782	grave	forte	3	35	10	cura
1818	grave	forte	6	15	3	cura
1853	grave	subent.	20	19	13	cura
1868	grave	leve	9	210	66	cura
1980	benigno	—	6	10	—	cura
1982	benigno	—	17	51	—	cura
1983	grave	leve	9	10	—	cura
2021	grave	leve	7	8	6	cura
2059	benigno	—	7	34,5	22	cura
2062	grave	subent.	5	11,5	8	óbito
2063	grave	forte	8	160	21	óbito
2064	grave	subent.	6	252	164	óbito
2080	grave	subent.	6	11	28	cura
2095	grave	forte	7	25	—	óbito
2112	grave	forte	4	11,5	23	óbito
2117	benigno	—	7	4,5	3	cura
2136	grave	leve	9	15	22	cura
2167	grave	leve	4	24,5	11	cura
2227	grave	forte	15	15	9	cura
2259	benigno	—	10	8	16	cura
2271	benigno	—	10	4,5	16	cura
2287	benigno	—	15	10	5	cura
2294	benigno	—	11	4,5	12	cura
2316	grave	leve	3	116	35	cura
2319	grave	forte	3	740	111	óbito
2321	grave	forte	5	40	—	cura
2330	grave	forte	4	10	29	cura

TABELA II

Valores da dosagem múltipla de CPK e aldolase

Registro	Dias de doença	CPK (U. Sigma)	Aldolase
1686	11	63	14
	26	64	16
	31	23	14
1699	9	11,5	4
	13	8	8
1711	3	35	12
	25	8	5
1818	6	15	3
	9	40	5

TABELA III

Análise estatística dos valores de CPK no tétano comparativamente à população normal (segundo Hess & col.)

Níveis de CPK (U. Sigma)	Indivíduos		Total
	Normais	Tétano	
< 12	95	15	110
> 12	2	21	23
Total	97	36	133

$$\chi^2 = 58,12$$

no entanto, não encontraram atividade sérica aumentada da CPK, mesmo nos casos graves. LUNDSGAARD-HANSEN & col.⁵, por outro lado, encontraram aumento da atividade sérica da CPK no tétano, assim como de outras enzimas envolvidas no metabolismo celular.

A elevação dos níveis de CPK e aldolase séricas na infecção tetânica tem sido atribuída a alterações na permeabilidade da mem-

brana das células, provocando a liberação das enzimas; a uma adaptação enzimática inespecífica à atividade muscular aumentada, assim como ocorre no exercício muscular; a um efeito direto da toxina sobre as células. LUNDSGAARD-HANSEN & col.⁵ sugerem o segundo mecanismo como o principal, enquanto que PATEL & RAO⁹ referem as alterações na permeabilidade celular. Os resultados

TABELA IV

Análise estatística dos valores de aldolase no tétano comparativamente à população normal (segundo Sibley & col.)

Níveis de aldolase (U. Sib-Leh)	Indivíduos		Total
	Normais	Tétano	
< 8	68	6	74
> 8	—	24	24
Total	68	30	98

$$x^2 = 72,04$$

TABELA V

Relação entre a forma clínica e os níveis de CPK

Níveis de CPK (U. Sigma)	Forma clínica		Total
	Benigno	Grave	
< 12	8	7	15
> 12	3	18	21
Total	11	25	36

$$P \leq 0,000169$$

apresentados neste trabalho confirmam a elevação da atividade enzimática da aldolase e CPK no soro de pacientes com tétano. Observamos que na maioria dos casos existe elevação concomitante das duas enzimas, sendo os níveis da CPK maiores em relação a aldolase. Em alguns pacientes ocorreu aumento da atividade da aldolase sem a correspondente elevação da CPK. Verificamos, ainda, que a atividade aumentada das enzimas mostra relação com a gravidade da doença, fato particularmente notável com a CPK.

Tais resultados permitem as seguintes conclusões:

- 1) Existe algum tipo de agressão celular no tétano, que provoca liberação de CPK e aldolase;
- 2) O encontro de níveis mais elevados de CPK que aldolase são demonstrativos de que a fibre muscular é particularmente injuriada;

TABELA VI

Relação entre a forma clínica e os níveis de aldolase

Níveis de aldolase (U. Sib-Leh)	Forma clínica		Total
	Benigno	Grave	
< 8	3	3	6
> 8	5	19	24
Total	8	22	30

P < 0,0022

- 3) Sendo a aldolase uma enzima presente em vários tecidos, é possível o aumento de sua atividade sem a correspondente elevação da CPK;
- 4) No tétano, a determinação da CPK parece ter maior valor diagnóstico e prognóstico do que a aldolase;
- 5) A associação das formas graves do tétano com níveis elevados das enzimas, sugere que a injúria celular deve ser maior nestas formas da doença;
- 6) Torna-se necessário maior estudo do tecido muscular no tétano, em particular nas formas graves da doença, a fim de se estabelecer o mecanismo de liberação enzimática.

SUMMARY

Serum levels of creatinephosphokinase and aldolase in tetanus

The Authors study the serum levels of creatinephosphokinase (CPK) and aldolase in tetanus. They find that both enzymes rise in this disease, specially the CPK levels. A relationship is made between the severity and rise of the enzymes. A statistical analysis confirm these results.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. CANTAROW, A. & SCHEPARTZ, B. — *Biochemistry*. 4th ed. Philadelphia, Saunders Co., 1967, p. 209.
2. HESS, J. W.; MACDONALD, R. P.; FREDERICK, R. J.; JONES, R. N.; NEELY, J. & GROSS, D. — Serum CPK activity in disorders of heart and skeletal muscle. *Ann. Int. Med.* 61:1015-1028, 1964.
3. KENDRICK-JONES, J. & PERRY, S. V. — Enzymatic adaptation to contractile activity in skeletal muscle. *Nature (London)* 208: 1065, 1965.
4. LOPEZ, J. C. — *Enzimologia*. Barcelona, Ed. Científico-Médica, 1969, p. 357.
5. LUNDSGAARD-HANSEN, P.; STIRNEMANN, V.; STIRNEMANN, H. & RICHTERICH, R. — Enzymatic changes in clinical and experimental tetanus. In L. Eckmann (ed.). *Principles on Tetanus. International Conference on Tetanus, Proceedings*. Bern, Huber, 1967, p. 191-197.
6. MOLLARET, P.; VIC-DUPONT, V.; CARTIER, F.; MARGAIRAZ, A.; MONSALLIER, J. F.; POCIDALO, J. J. & GROBGLAS, A. — Traitement du tetanos au centre de reanimation de l'hôpital Claude-Bernard. *Presse Med.* 73:2153-2156, 1965.
7. MULLAN, D. & DUBOWITZ, V. — Serum enzymes in diagnosis of tetanus. *Lancet* 2: 505-508, 1964.
8. OKINAKA, S.; KUMAGAI, H.; EBASHI, S.; SUGITA, H.; MOMOI, H.; TOYOKURA, Y. & FUJIE, Y. — Serum creatinephosphokinase. *Arch. Neurology* 4:520, 1961.

TAVARES, W.; SADDY, J. C.; ALFRADIQUE, M. E. M. & FRIAS, L. A. M. — Estudo dos níveis séricos da creatinofosfoquinase e aldolase em pacientes com tétano. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 16:189-196, 1974.

9. PATEL, A. A. & RAO, S. S. — Serum aldolase in tetanus. *Amer. J. Med. Sci.* 251: 290-294, 1966.
10. SADDY, J. C.; PEREIRA da SILVA, J. J.; VIEIRA, W. A. & COURA, J. R. — Avaliação da atividade enzimática da creatinofosfoquinase no soro de pacientes com leptose. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 5:323-331, 1971.
11. SIBLEY, J. A. & LEHNINGER, A. L. — Aldolase in the serum and tissues of tumor-bearing animals. *J. Nat. Cancer Inst.* 9:303, 1948.
12. SIGMA TECHNICAL BULL. n.º 661 — *Creatinephosphokinase in serum and other fluids.* St. Louis, Missouri (U.S.A.), Sigma Chemical Co., 1970.
13. SIGMA TECHNICAL BULL. n.º 750 — *Aldolase in serum and other fluids.* St. Louis, Missouri (U.S.A.), Sigma Chemical Co., 1970.
14. VOLK, B. W.; LOSNER, S. & ARONSON, S. M. — The serum aldolase level in acute myocardial infarction. *Amer. J. Med. Sci.* 232:38, 1956.

Recebido para publicação em 19/11/1973.