

Departamento de Investigación del Hospital Municipal  
de Infecciosos. Sección Inmunoquímica. — Barcelona

## Mucoproteinemia

### I. Técnica de determinación y valores normales

por

J. Gras y J. Capdevila

---

(Recibido para publicar el 20-4-1961)

La valoración de las glucoproteínas percloro o sulfosalicilo solubles ha adquirido interés desde los estudios de WINZLER (9) y GREENSPAN (2, 3, 4) como dato para el diagnóstico o pronóstico evolutivo de determinados procesos patológicos. La clasificación de estas glucoproteínas como mucoproteínas o mucoides (sero-mucoides), según el mucopolisacárido sea neutro o ácido, de acuerdo con la clasificación de MEYER, de 1953, no puede establecerse aún con seguridad, por lo que de momento y dada la generalización de los trabajos antes citados, seguimos con la denominación de mucoproteínas.

Verificada la precipitación selectiva por el ácido perclórico 0,75 M., la ulterior dosificación de las mismas puede hacerse por turbidimetría, dosificación del componente proteico como tal o expresado en tirosina o bien por dosificación de la fracción carbohidrato. Hace unos años (1) pensamos sería conveniente utilizar para la dosificación del componente proteico el reactivo de Folin cobre de LOWRY y cols. (6), de una gran sensibilidad y seguridad. Este mismo reactivo ha sido utilizado con igual fin por MENINI (7). Como en la actualidad tenemos una experiencia considerable en esta determinación, hemos creído oportuno publicarla en detalle, conjuntamente con los valores normales obtenidos.

*Reactivos*

1. Acido perclórico (HClO<sub>4</sub>) 0,75 M. Debe controlarse cuidadosamente por titulación.
2. Acido fosfotúngstico al 5 % en H Cl 2 N.
3. NaOH N.
4. Solución alcalina de cobre, que se prepara cada día con 50 c.c. de solución A (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 2 % en agua destilada) y 1 c.c. de solución B. (Cu SO<sub>4</sub>, 5 H<sub>2</sub>O al 0,5 % en solución de tartrato sódico potásico al 1 %).
5. Reactivo de Folin-Ciocalteau diluido a la mitad (N en ácido).
6. Solución patrón de tirosina al 0,1 % en HCl 0,1 N. Mantener en nevera.

*Técnica*

A 1 c.c. de suero se añaden 4 c.c. de H ClO<sub>4</sub> 0,75 M. Se agita y se deja en reposo durante 10 minutos. Se filtra (Albet número 242). En un tubo de centrífuga se colocan 2,5 c.c. del filtrado, se añaden 0,5 c.c. de la solución de ácido fosfotúngstico, se agita y transcurridos 15 minutos se centrifuga durante 5 minutos a 3000 r.p.m. Se decanta y el precipitado se lava con 2 c.c. de la solución de ácido fosfotúngstico. Se deja secar el precipitado colocando el tubo invertido durante 24 horas.

Se disuelve el precipitado en 0,25 c.c. de NaOH N, esperando de 10 a 15 minutos, para que la disolución sea completa. Se añaden 2,5 c.c. de la solución alcalina de cobre. Se deja 10 minutos en reposo y se le adiciona 0,25 c.c. de reactivo de Folin-Ciocalteau diluido a la mitad y agitando con rapidez. Transcurridos 25 minutos se añaden 5,5 c.c. de agua destilada y se procede a la lectura fotométrica.

Simultáneamente se prepara un patrón y un blanco. En el tubo patrón se colocan 0,5 c.c. de la solución patrón de tirosina, diluida al 1/10 en agua destilada en el momento de su uso, y en el tubo blanco 0,5 c.c. de agua destilada. Se procede con ellos igual que con el precipitado de mucoproteínas, con la única diferencia que en ellos, a fin de operar con igual volumen, se añaden sólo 5 c.c. de agua destilada.

La lectura fotométrica (L) expresada en E. × 100, se hace con filtro verde Evans 404 (530 mμ), colocando a cero con el blanco. Se expresan las mucoproteínas en mg % de proteína, por cálculo mediante la siguiente fórmula :

$$\text{mg \%} = \frac{L^2}{27}$$

Esta fórmula se ha desarrollado del estudio de la curva de reacción (fig. 1), que puede servir también para la obtención directa del valor mucoproteína en mg %.

#### *Obtención de la curva*

Partiendo de una mezcla de varios sueros normales hicimos una serie de diluciones en suero fisiológico de forma a obtener unas soluciones finales con un contenido en proteína de 140, 126, 112, 98, 84, 70, 56, 42, 28 y 14 mg % de proteína respectivamente. A 2,5 c.c. de cada una de ellas se añadieron 0,5 c.c. de la solución de ácido fosfotúngstico, siguiéndose a partir del precipitado obtenido todos los pasos subsiguientes descritos en la técnica. Practicada las determinaciones duplicadas se obtiene la curva promedio de la fig. 1.

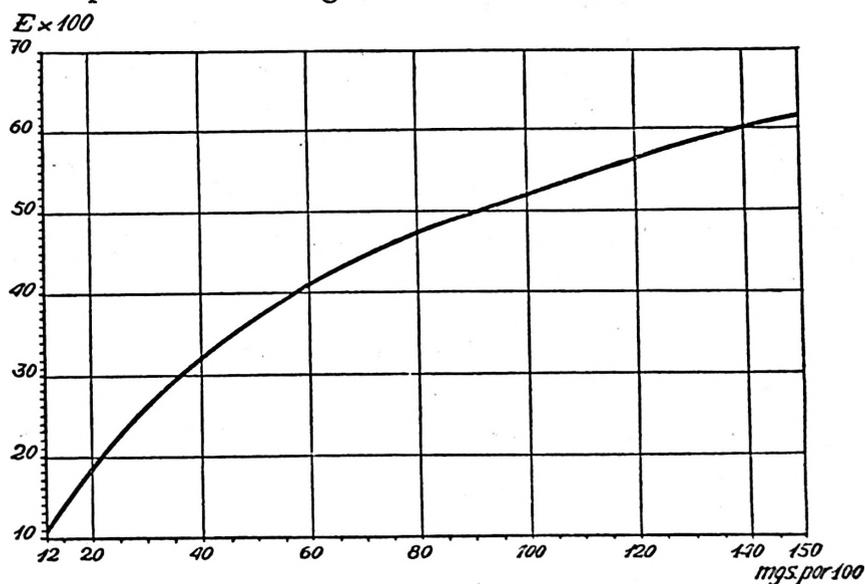


Fig. 1

Simultáneamente se efectúa una determinación duplicada con el factor de tirosina, obteniéndose una lectura promedio de 44,0, que nos sirve para el ulterior control de la curva o de la fórmula, ya que si el patrón de tirosina no da exactamente la misma lectura, debe hacerse la oportuna corrección.

Hemos estudiado también la curva obtenida en filtro encarnado, Evans 205- $m\mu$  650, pero aunque da extinciones superiores, tampoco sigue la ley de Beer y se obtiene una curva menos regular, por lo que hemos escogido el filtro verde.

## CUADRO I

Valor de la mucoproteinemia en 36 sueros normales

Suero n.º	Sexo M	Suero n.º	Sexo F
	Mucoproteínas mg. %		Mucoproteínas mg. %
1	85,33	20	41,56
2	49,88	21	42,81
3	64,55	22	40,21
4	56,33	23	43,44
5	45,24	24	41,56
6	45,11	25	66,89
7	50,56	26	60,00
8	36,16	27	63,02
9	77,52	28	89,83
10	57,05	29	33,33
11	76,67	30	38,52
12	55,61	31	58,62
13	65,02	32	34,22
14	48,53	33	37,33
15	86,58	34	37,57
16	38,76	35	28,52
17	50,70	36	31,04
18	44,33		
19	80,08		
Promedio	58,63	Promedio	46,38
Límites	36,16-85,58	Límites	28,52-89,83
	Promedio general	52,84	
	Límites	28,52-89,83	
	$\sigma$	16,87	

## Valores normales

Con esta técnica se han estudiado los valores normales de la mucoproteinemia en una serie de 36 sueros normales, correspondientes 19 al sexo masculino y 17 al femenino, cuyos datos se presentan en el cuadro 1. El promedio global obtenido es de 52,84 mg %, con una  $\sigma$  de 16,87. Considerando separadamente ambos sexos, el valor promedio resulta igual a 58,63 y 46,38, para el masculino y femenino, respectivamente.

Estudiando las diferencias observadas en los duplicados de las 36 determinaciones se ha obtenido una diferencia promedio de  $\pm 2,75$  mg de mucoproteína %, con unos límites de 0,0 a

CUADRO II  
 Valores normales de mucoproteinemia, expresados en proteína  
 (mg. %), obtenidos por diversos autores

	Año	N.º casos	Sexo	Prom.	$\sigma$	Límites	Met. determ.
WINZLER y cols. GREENSPAN y cols.	1948	10	—	86,7	(1)	—	Biuret
	1951	17	—	60,0	8,2	44,1-75,1	Biuret
	1952	43	F	54,3	—	39,1-70,6	Biuret
GREENSPAN y cols. GREENSPAN y DREILING	—	46	M	60,3	—	48,8-74,2	—
	1953	80	F	52,9	—	36,7-74,6	Biuret
	—	105	M	59,2	—	38,9-78,7	Biuret
WINZLER HUERGA y cols.	1955	20	—	61,2	(2)	—	—
	—	30	F	77,1	14,0	60,0-100,0	Turbidimétrico
	1956	40	M	81,2	18,0	55,0-105,0	Turbidimétrico

(1) Error standard de la media  $\pm$  9,6.

(2) Error standard de la media  $\pm$  2,8.

7,40, aunque en el 85,7 % de los casos la diferencia es menor de  $\pm 5$  mg.

En el cuadro 2 hemos resumido los datos correspondientes a algunos valores de la literatura, limitándonos tan sólo a los trabajos en los que se valora también la mucoproteína en proteína. Como se observa, nuestros resultados personales concuerdan aceptablemente con los obtenidos por GREENSPAN y cols. y los últimos de WINZLER. Por el contrario, los de DE LA HUERGA y cols., obtenidos turbidimétricamente, son algo más elevados.

### Resumen

Se expone una técnica para la determinación de las mucoproteínas del suero, basada en la de Winzler con aplicación del reactivo de cobre de Folin de Lowry et al., para la titulación final del precipitado de mucoproteínas.

Con esa técnica se estudian los valores normales de las seromucoproteínas en una serie de 36 sueros normales, correspondientes 19 al sexo masculino y 17 al femenino, cuyos datos se presentan en el cuadro 1. El promedio global es de 52,84 mg % con un  $\sigma$  de 16,87. Considerando por separado ambos sexos, el valor promedio es igual a 58,63 y 46,38, para el masculino y el femenino, respectivamente.

Estudiando las diferencias observadas en los duplicados de las 36 determinaciones, se obtiene una diferencia promedio de  $\pm 2,75$  mg de mucoproteína %, con límites de 0,0 a 7,40, aunque la diferencia es menor de  $\pm 5$  mg en un 85,7 % de los casos.

### Summary

#### Serum mucoproteins. I. Technique of determination and normal values

A technique is exposed for the determination of serum mucoproteins, based on Winzler's with application of Folin copper reagent of Lowry et al. for the final titration of the mucoprotein precipitate.

With this technique, the normal values of serum mucoproteins are studied in a series of 36 normal sera, 19 corresponding to masculine and 17 to feminine sex, whose data are presented in picture 1. The global average is 52.84 mg % with a  $\sigma$  of 16.87. Considering apart both sexes, the average value is equal to 58.63 and 46.38, for the masculine and feminine, respectively.

Studying the differences observed in the duplicates of the 36 determinations, an average difference of  $\pm 2.75$  mg of mucoprotein % is obtained, with limits of 0.0 to 7.40, although the difference is less than  $\pm 5$  mg in a 85.7 % of the cases.

**Bibliografía**

- (1) GRAS, J.: *Proteínas plasmáticas*. Ed. Jims. Barcelona, 1956.
- (2) GREENSPAN, E. M. y DREILING, D. A.: *Arch. Int. Med.*, 91, 474, 486, 1953.
- (3) GREENSPAN, E. M., LHMANN, I., GRAFT, M. M. y SHOENBACH, E. B.: *Cáncer*, 4, 972, 983, 1951.
- (4) GREENSPAN, E. M., TEPPER, B., TERRY, L. L. y SHOENBACH, E. B.: *J. Lab. Clin. Med.*, 56, 39, 44, 1952.
- (5) HUERGA, J. DE LA, DUBIN, A., KUSHNER, D. S., DYNIEWICZ, H. A. y POPPER, H.: *J. Lab. Clin. Med.*, 47, 403, 408, 1956.
- (6) LOWRY, O. M., ROSENBOUGH, N. J., FARR, L. y RANDALL, R. J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 275, 1951.
- (7) MENINI, E., FALHOLT, W. y LOUS, P.: *Act. Med. Scand.*, 160, 315, 322, 1958.
- (8) WINZLER, R. J.: *En Methods of Biochemical Analysis*. Vol. II. Inters. Pub. New York, 1955.
- (9) WINZLER, R. I., DEVOR, A. W., MEHL, J. W., SMYTH, J.: *J. Clin. Invest.*, 27, 609, 616, 1948.