

## MUCOPROTEÍNAS: NOVAS CONTRIBUIÇÕES PARA UM PROBLEMA LABORATORIAL

Heidi Pinto MARTINS\*  
Irene Mara ZAMBONI\*\*  
Mary Mitiko YUKI\*  
Lucia Nassi CASTILHO\*

RIALA6/692

MARTINS, H.P.; ZAMBONI, I.M.; YUKI, M.M. & CASTILHO, L.N. — Mucoproteínas: novas contribuições para um problema laboratorial. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 50 (1/2): 281-283, 1990.

**RESUMO:** O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da concentração do ácido perclórico e da temperatura de desproteinização, na determinação das mucoproteínas séricas. Como o doseamento das mucoproteínas possui importância clínica no acompanhamento de doenças infecciosas e de vários distúrbios metabólicos, exige-se, desta forma, um controle minucioso de fatores externos que possam interferir na sua quantificação.

**DESCRIPTORIOS:** mucoproteínas; diluição do ácido perclórico; temperatura de desproteinização.

### INTRODUÇÃO

Winzler, em 1958<sup>9</sup>, propôs uma das melhores classificações das proteínas contendo carboidratos, dividindo-as em dois grandes grupos: mucoproteínas e glicoproteínas. As mucoproteínas foram definidas como proteínas combinadas com mucopolissacarídeos (polissacarídeos contendo hexosamina e ácido urônico ou sulfúrico) numa ligação polar.

As mucoproteínas representam uma fração heterogênea das proteínas solúveis que podem ser separadas por eletroforese em cinco subfrações de acordo com sua mobilidade<sup>4</sup>. Essa heterogeneidade foi demonstrada por imunoeletroforese e por cromatografia<sup>5</sup>.

Em 1948, WINZLER et al.<sup>7</sup> descreveram a técnica de doseamento das mucoproteínas baseada na solubilidade seletiva das proteínas em ácido perclórico diluído e, na posterior precipitação pelo ácido fosfotúngstico. Devido à co-

precipitação de outras proteínas séricas com o ácido perclórico, a recuperação das mucoproteínas por este sistema é cerca de 70%<sup>7</sup>. A extensão da co-precipitação depende de vários fatores como a diluição do soro e do ácido perclórico, do método de agitação utilizado, do tempo e da temperatura de contato entre o sobrenadante e as proteínas precipitadas e da concentração de NaCl na diluição do soro

Outra possível causa de baixa recuperação é a absorção das mucoproteínas ao papel de filtro<sup>3</sup>, causa esta pouco estudada até hoje.

A temperatura de precipitação das proteínas também é fator importante para que a determinação das mucoproteínas seja precisa, sendo que a temperatura não deve exceder a 24°C. Em temperaturas superiores, deve-se utilizar banho de gelo para efetuar a precipitação.

Segundo Greenspan<sup>2</sup>, os resultados obtidos com plasma são cerca de 30% mais baixos do que os ob-

\* Pesquisadoras do Instituto Adolfo Lutz.  
\*\* Técnica de Laboratório do IAL.

TABELA 1

Comparação dos resultados da determinação de mucoproteínas (mg/dl de tirosina), utilizando-se diferentes concentrações de ácido perclórico em "pool" de SCN.

	"kit"	0,67N	0,75N	0,90N	1,20N
muco	4,08 ± 0,43	3,91 ± 0,32	3,77 ± 0,30	3,43 ± 0,20*	3,48 ± 0,32*

\* P < 0,05 vs. "kit" específico.

n = < 20 em cada concentração de ácido perclórico.

tidos com soro, variando ainda com o tipo de anti-coagulante utilizado. As mucoproteínas séricas permanecem estáveis por dois a sete dias a 4°C.

O aumento das mucoproteínas ocorre em vários processos patológicos agudos ou crônicos, como neoplasias, doença do colágeno, tuberculose e doenças infecciosas, diabetes mellitus, cirrose hepática, psoríase, gota<sup>6</sup> etc. Por outro lado, a diminuição dos níveis séricos de mucoproteínas ocorre apenas na síndrome nefrótica<sup>8</sup>.

Baseados nestas considerações, estudamos a influência de diferentes concentrações de ácido perclórico, bem como da temperatura de desproteínização na precisão da dosagem sérica de mucoproteínas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos a técnica clássica proposta por WINZLER et al.<sup>7</sup>, com algumas modificações, como a seguir:

A 1 ml de soro acrescentar 9 ml de ácido perclórico 0,67 N e agitar. Após exatamente dez minutos (temperatura inferior a 24°C) filtrar em papel de filtro Whatman nº 50 ou equivalente (às vezes se faz necessário refiltrar no mesmo papel de filtro). Em seguida, colocar 3 ml do filtrado em tubo de centrífuga, e adicionar 0,6 ml de ácido fosfotúngstico 5%. Misturar e esperar dez minutos. Centrifugar e descartar o sobrenadante. Dissolver o precipitado em 5 ml de carbonato de sódio 0,57 N. Fazer um branco com 50 µl de água destilada e um padrão usando 50 µl de solução padrão de tirosina (40mg/dl). Adicionar a todos os tubos 0,2 ml de reativo de Folin (1:2,5). Agitar, colocar em banho-maria a 37°C e esperar por 15 minutos. Esfriar os tubos e efetuar as leituras espectrofotométricas a 680 nm, ignorando alguma turbidez (efeito Tyndall positivo). Os resultados são expressos em mg/dl de tirosina.

Foi utilizado um "pool" de soro controle normal (SCN) armazenado a 4°C por 24 a 48 horas.

TABELA 2

Comparação dos resultados da determinação de mucoproteínas (mg/dl de tirosina) em diferentes faixas de temperatura de desproteínização em "pool" de SCN.

	Temperatura de desproteínização	
	16 a 23°C	24 a 32°C
muco	4,21 ± 0,35	3,15 ± 0,41*

\* p < 0,05.

n = 62 em cada faixa de temperatura.

Estudamos: 1) variação dos resultados com diferentes concentrações de ácido perclórico entre 0,67 e 1,2 N; as amostras também foram dosadas por "kit" específico, 2) a influência da temperatura na precipitação das proteínas, efetuando-se determinações simultâneas em temperaturas entre 16 e 23°C e na faixa de 24 a 32°C, mantendo-se neste caso a concentração do ácido perclórico constante ("kit").

A análise estatística dos resultados foi efetuada pelo teste "t" de Student e o nível de significância estabelecido em 5%.

## RESULTADOS

Na tabela 1 apresentamos os resultados da mucoproteína sérica obtidos em "pool" de soro controle normal (SCN), com diferentes concentrações de ácido perclórico.

Os resultados obtidos com diferentes temperaturas de precipitação estão apresentados na tabela 2.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Tem sido relatado que o método proposto por WINZLER em 1948<sup>7</sup>, apresenta certas limitações

na obtenção de valores precisos dos níveis séricos de mucoproteínas. A despeito disso, ainda hoje, é o método preconizado pela maioria dos laboratórios clínicos.

Nossos resultados mostraram que a melhor recuperação da mucoproteína ocorre em concentrações de ácido perclórico entre 0,67 e 0,75 N, valores estes compatíveis aos obtidos com "kit" específico (tabela 1). Concentrações do desproteinizante acima destes valores mostraram menor recuperação das mucoproteínas, fornecendo resultados significativamente mais baixos.

Na tabela 2 podemos observar que o controle

da temperatura deve ser rígido, pois pequenas elevações durante o processo de desproteíntização levam a subestimação dos resultados.

Cabe ressaltar que estes valores falsamente baixos, resultantes da utilização de uma concentração inadequada de ácido perclórico e da desproteíntização em temperaturas elevadas, podem levar a um diagnóstico errôneo.

Portanto, sendo a determinação seriada de mucoproteínas um instrumento útil para o clínico no direcionamento da conduta terapêutica, é de fundamental importância garantir a precisão dos resultados, através da minimização de possíveis causas de erro.

RIALA6/692

MARTINS, H.P.; ZAMBONI, I.M.; YUKI, M.M. & CASTILHO, L.N. — Mucoproteins: new assessments for a laboratorial problem. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 50 (1/2): 281-283, 1990.

**ABSTRACT:** The aim of the present study was to evaluate the influence of perchloric acid concentration and temperature at the precipitation step on the determination of mucoproteins. Our results showed that the increase of perchloric acid concentration as well as of the temperature produce underestimated values of serum mucoproteins. Duto the clinical significance of the mucoproteins dosage for the accompaniment of patients with infectious diseases and metabolic disturbances, it is required a detailed control of external factors which can interfere on its quantification.

**DESCRIPTORS:** mucoproteins, acid perchloric dilution, precipitation temperature.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOGDANIKOWA, B.; BERNACKA, K. & DROZD, J. — Immunoelktrophorese der perchlorsaurelöslichen serumproteine. *Clin. chim. Acta.* 13:221-7, 1966.
2. DOCK, W. & SNAPPER, I. — *Advances in internal medicine*. Chicago, Yr. Bk. Pub., 1955. v. 7, p. 101.
3. LEDVINA, M. & COUFALOVA, S. — Adsorption of blood serum mucoproteins on filter paper. *Clin. chim. Acta.*, 6:16-21, 1961.
4. MORAWIECKA, B. & MEJBAUM-KATZENELLENBOGEN, W. — The quantitative determination of human seromuroid fractions in paper electrophoresis. *Clin. chim. Acta.* 7:722-8, 1962.
5. PRICE, W.H.; MATANOSKI, G.M.; MORRISON, D.; PREWER, A. & WAGNER, G. — The fractionation of seromuroids from human serum. *Bull. Johns Hopk. Hosp.*, 108:227-41, 1961.
6. SPIRO, R.G. — Glycoproteins: their biochemistry, biology and role in human disease. *New Engl. J. Med.*, 281:991-1001, 1969.
7. WINZLER, R.J. & SMYTH, I.M. — Studies on mucoproteins of human plasma; plasma mucoprotein levels in cancer patients. *J. clin. Invest.*, 27:617-9, 1948.
8. WINZLER, R.J. - Determination of serum glycoproteins. In: GLICK D. ed. — *Methods of Biochemical Analysis*. New York, Interscience, 1955. v. 2, p. 279.
9. WINZLER R.J. — Glycoproteins of plasma. In: WOLSTYENHOLME, G.E.W. & O'CONNOR, M. — *Ciba Foundation Symposium on the chemistry and biology of mucopolysaccharides*. Boston, Churchill, 1958. p. 245-267.

Recebido para publicação em 12 de março de 1990.

