



CNEN/SP

ipen Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares

GASTRINA RADIOIODADA NO IPEN: COMPARAÇÃO COM UM
TRAÇADOR COMERCIAL

Maria Glória PEIG GINA3REDA, Vânia Caira BORGHI e Agostinho BETTARELLO

IPEN. PUA -- 268.

PUBLICAÇÃO IPEN 268

AGOSTO/1989

**GASTRINA RADIOIODADA NO IPEN: COMPARAÇÃO COM UM
TRAÇADOR COMERCIAL**

Maria Glória PEIG GINABREDA, Vânia Caira BORGHI e Agostinho BETTARELLO

DEPARTAMENTO DE APLICAÇÕES EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CNEN/SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO – BRASIL**

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

C45.00

**COMPARATIVE EVALUATIONS
GASTRIN
IODINATION
RADIOIMMUNOASSAY**

IPEN - Doc - 3377

Aprovado para publicação em 26/06/89.

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do(s) autor(es).

**GASTRINA RADIOIODADA NO IPEN: COMPARAÇÃO COM UM TRAÇADOR
COMERCIAL***

**Maria Glória PEIG GINABREDA, Vânia Caira BORGHI e Agosti-
nho BETTARELLO¹**

**COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - BRASIL**

RESUMO

Nos laboratórios do IPEN foi preparada gastrina radioiodada para uso em radioimunoensaio tendo sido realizado o controle de sua qualidade. Este trabalho conclui o estudo da avaliação da qualidade da gastrina radioiodada no IPEN, comparando-a a um traçador comercial através da análise de sua pureza e da adequação de seu emprego no radioimunoensaio. O traçador IPEN apresentou elevada pureza quando submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida a 7% (85,00% contra 65,81%). A incorporação de ¹²⁵I avaliada através da precipitação pelo ácido tricloroacético confirmou seu elevado grau de pureza (96,23% contra 75,38%). Ainda em relação à pureza, no sistema de radioimunoensaio, o traçador IPEN apresentou menor valor de ligação inespecífica (1,40% contra 7,30%). Os títulos de anti-soro que forneceram ligação de 50% com os traçadores foram muito similares: 1:136.000 para o IPEN e 1:152.000 para o comercial. Nesse sentido, os valores das ligações específicas obtidos nos ensaios foram muito próximos (48,60% para o IPEN e 45,90% para o comercial) bem

(*) Trabalho apresentado na XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica, realizada em Caxambu (MG) de 4 a 6 de maio de 1989.

(1) Professor Titular da disciplina de Gastroenterologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, falecido em março de 1989.

2

como as respectivas doses que produziram uma queda de 50% na ligação máxima (45 e 40 pmol/l). Além disso, as curvas padrão obtidas com ambos os traçadores foram paralelas apresentando elevada sensibilidade (0,99 pmol/l para o IPEN e 0,80 pmol/l para o comercial). Amostras de controle de qualidade interno foram dosadas nos ensaios realizados com estes traçadores apresentando correlação significativa ($p \leq 0,001$), indicando ser o nosso traçador de qualidade comparável aquele importado.

GASTRIN LABELLED AT IPEN: COMPARISON WITH A COMMERCIAL TRACER*

Maria Glória PEIG GINABREDA, Vânia Caira BORGHI and Agostinho BETTARELLO¹

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - BRASIL

ABSTRACT

Radioiodinated gastrin has been prepared at IPEN laboratory for radioimmunoassay use and submitted to a quality control evaluation. This work concludes the evaluation of quality of gastrin radioiodinated at IPEN, comparing it with a commercial tracer through the analysis of the purity and the radioimmunoassay performance. The IPEN tracer presented a higher purity when analyzed on 7% polyacrylamide gel electrophoresis (85,00% against 65,81%). The ¹²⁵I incorporation evaluated through trichloroacetic acid precipitation confirmed its high purity degree (96,23% against 75,38%). In relation to the purity, in the radioimmunoassay system, the IPEN tracer presented the lower non-specific binding value (1,40% against 7,30%). The antibody titers required to bind 50% of the tracers were very similar: 1:136.000 for the IPEN and 1:152.000 for the commercial. In this way the specific binding of the radioimmunoassay was close (48,60% for the IPEN and 45,90% for the commercial) as well as the respective doses producing 50% fall in the maximum responses (45 and 40 pmol/l). Besides, the standard curves obtained with both

(*) Paper presented at XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica, held in Caxambu (MG), May 4-6, 1989.

(1) Gastroenterology Department of the Medical School of São Paulo University - FMUSP, deceased in march 1989.

4

tracers were parallels presenting very high sensitivity (0,99 pmol/l for the IPEN and 0,80 pmol/l for the commercial). Samples of internal quality control measured in the standard curves prepared with these tracers showed a high significant correlation ($p \leq 0,001$), indicating the comparable quality of our tracer with imported one.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento do radioimunoensaio de gastrina no final da década de 60 (1,2) possibilitou o conhecimento da fisiologia e patofisiologia deste hormônio (3-6), tornando-se uma ferramenta indispensável para os estudos relativos ao mecanismo de sua liberação, de sua biossíntese bem como da interação com seus receptores celulares.

Mais recentemente, foi desenvolvido em nossos laboratórios um radioimunoensaio de gastrina altamente sensível e específico, cuja validade foi confirmada pela sua aplicação clínica na determinação da gastrinemia de indivíduos portadores de diferentes afecções (7).

A padronização deste radioimunoensaio exigiu o preparo cuidadoso de seu traçador, tendo sido realizado um rigoroso controle de sua qualidade pela análise dos seguintes parâmetros: rendimento da radioiodação, atividade específica, pureza, imunorreatividade e estabilidade da gastrina radioiodada (8).

O presente trabalho conclui o referido controle de qualidade, comparando o traçador preparado em nossos laboratórios com um traçador comercial por meio da análise de sua pureza e da adequação de seu emprego no radioimunoensaio de gastrina.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Gastrina humana sintética radioiodada no IPEN (8) foi comparada com aquela fornecida por um conjunto diagnóstico comercial (Baxter Travenol Diagnostics) no que diz respeito à sua pureza e adequação para ser empregada como traçador na realização de ensaios radioimunológicos.

Para tal fim, alíquotas de ambos traçadores foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida (EGPA) a 7% e ao teste de precipitação de proteínas pelo ácido tricloroacético (TCA), realizados de acordo com procedimentos descritos em trabalho anterior (8).

Estes traçadores foram empregados na realização de ensaios comparativos realizados de acordo com o método previamente desenvolvido em nossos laboratórios(7).

Analisaram-se os valores das ligações específicas (ligações máximas dos traçadores com o anticorpo na ausência de hormônio padrão),

inespecíficas (ligações dos traçadores na ausência de anticorpo), valores de ED_{50} e de sensibilidade desses ensaios. A sensibilidade foi estimada pelo cálculo da dose mínima detectável (DMD) de acordo com o método descrito por Rodbard (9).

A concentração de gastrina de amostras controle foi determinada em ambos os ensaios. Calculou-se a correlação linear entre estes valores quando estimados com um ou outro traçador, a fim de confirmar o paralelismo desses ensaios.

Quando foram realizados esses testes, haviam transcorrido 75 e 45 dias respectivamente, desde o preparo do traçador IPEN e do comercial.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A oportunidade de poder comparar o traçador IPEN com aquele fornecido por um conjunto diagnóstico comercial foi de grande importância para concluir o estudo referente ao controle de qualidade do traçador do radioimunoensaio de gastrina.

A Tabela 1 apresenta os valores de R_m e de pureza (% EGPA e % precipitação pelo TCA) dos traçadores IPEN e comercial. Seus valores de R_m foram bem semelhantes e característicos da gastrina radioiodada, conforme observado em trabalho anterior.

Quando analisados pela EGPA, o traçador IPEN apresentou maior grau de pureza do que o traçador comercial o que foi confirmado ainda pelos valores obtidos na precipitação pelo TCA (Tabela 1). Ambos traçadores mostraram nos seus respectivos eletroforetogramas aparecimento de ^{125}I em consequência de seu tempo de estocagem, sendo que a liberação de ^{125}I pelo traçador comercial foi bem maior (Figura 1).

A Figura 2 apresenta as curvas obtidas quando realizados concomitantemente ensaios com esses traçadores. Os valores relativos à ligação inespecífica, específica, ED_{50} e sensibilidade dessas curvas são mostrados na Tabela 2.

O valor de ligação inespecífica obtido no ensaio realizado com o traçador IPEN, valor inferior ao obtido com o traçador comercial, confirma o maior grau de pureza desse traçador. Entretanto, os valores de ligação específica, ED_{50} e DMD obtidos nas curvas padrão quan

**Tabela 1 - Valores comparativos da pureza e Rm dos traçadores
(IPEN e comercial) quando submetidos a EGPA e TCA**

Traçador	Rm	% EGPA	% TCA
IPEN	0,984	85,00	96,23
Comercial	1,000	65,80	75,38

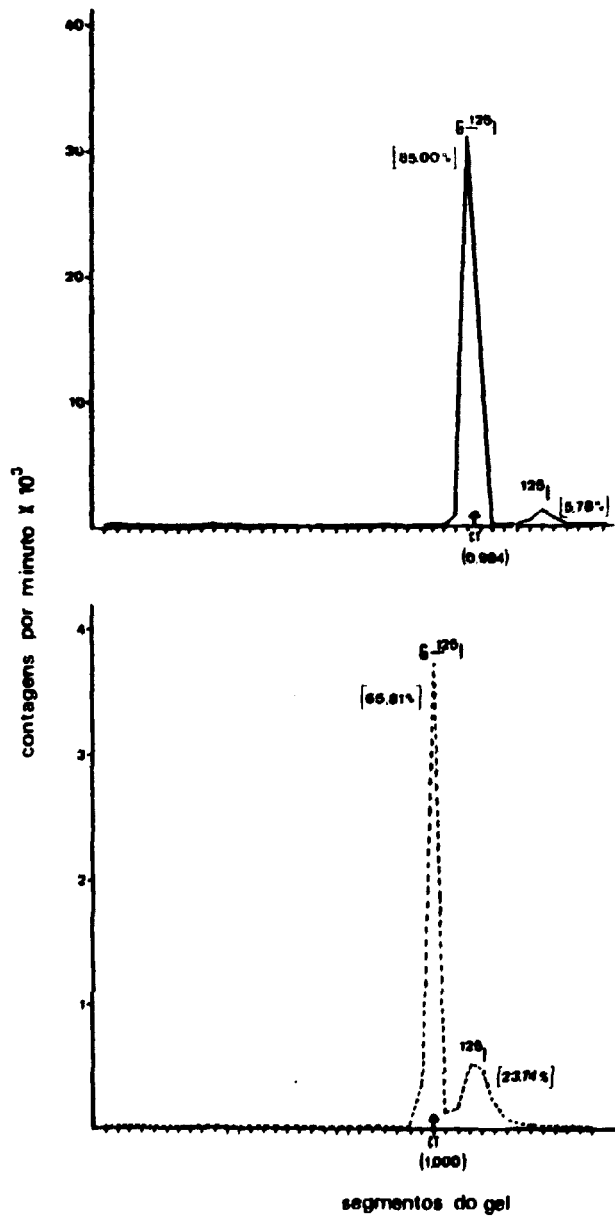


Figura 1: Eletroforetogramas dos traçadores IPEN (—) e comercial (-----).

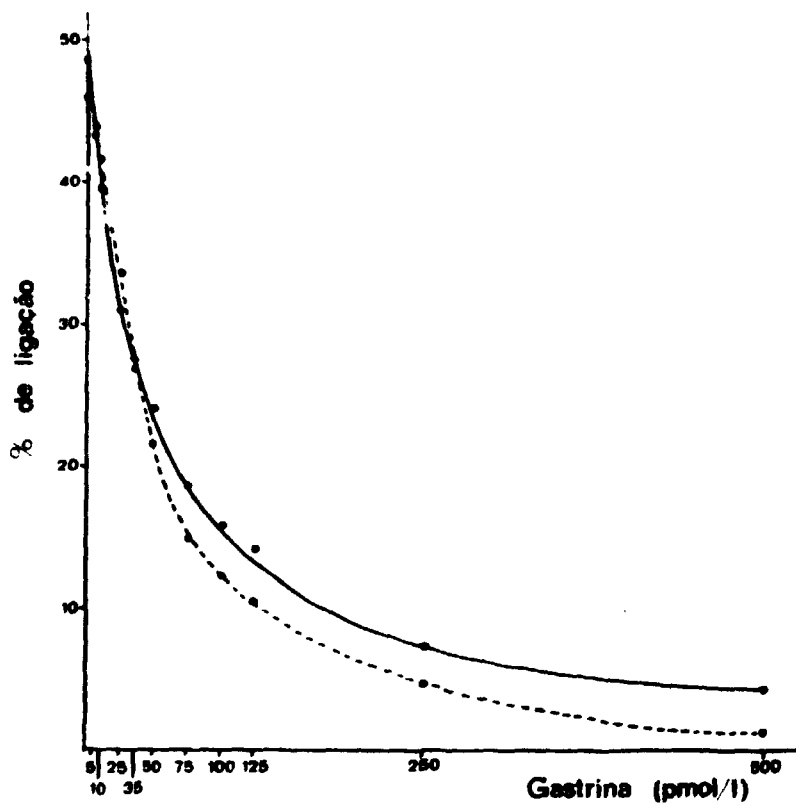


Figura 2: Curvas padrão obtidas com os traçadores IPEN (—) e comercial (----).

Tabela 2 - Parâmetros relativos às curvas padrão obtidas com o traçador IPEN e o comercial

Traçador	↳ Ligação inespecífica	↳ Ligação específica	ED ₅₀ (pmol/l)	DMD (pmol/l)
IPEN	1,40	48,60	45	0,99
Comercial	7,30	45,90	40	0,80

do empregados um ou outro traçador foram bem semelhantes, bem como os títulos de anti-soro que forneceram 50% de ligação com os traçadores (1:136.000 para o do IPEN e 1:153.000 para o comercial respectivamente).

As concentrações de diferentes amostras controle determinadas em ambos os ensaios estão expressas na Tabela 3. Conforme pode ser observado, estes valores são muito similares, apresentando um coeficiente de correlação linear de 0,9842, significativo para $p \leq 0,001$ (Figura 3).

As diferenças existentes entre as concentrações de gastrina quando determinadas com um outro traçador não foram portanto significantes, sendo ligeiramente maiores entre os valores extremos, variação esta inerente às próprias regiões de leitura da curva padrão conforme já descrito na literatura (10).

Os resultados assim obtidos confirmam a qualidade do traçador preparado em nossos laboratórios, bem como a perfeita adequação do seu uso no radioimunoensaio de gastrina.

4. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CNEN, à Disciplina de Gastroenterologia Clínica da FMUSP e ao CNPq (processo nº 405-557/87) os auxílios recebidos para a realização deste trabalho, bem como à FAPESP a bolsa de mestrado concedida.

Tabela 3 - Valores comparativos das amostras controle quando dosadas em curvas obtidas com o traçador IPEN e o comercial

Amostras controle (Nº)	Gastrina (µmol/l)	
	Traçador IPEN	Traçador Comercial
1	7	11
2	16	19
3	19	26
4	40	45
5	48	49
6	75	75
7	100	125

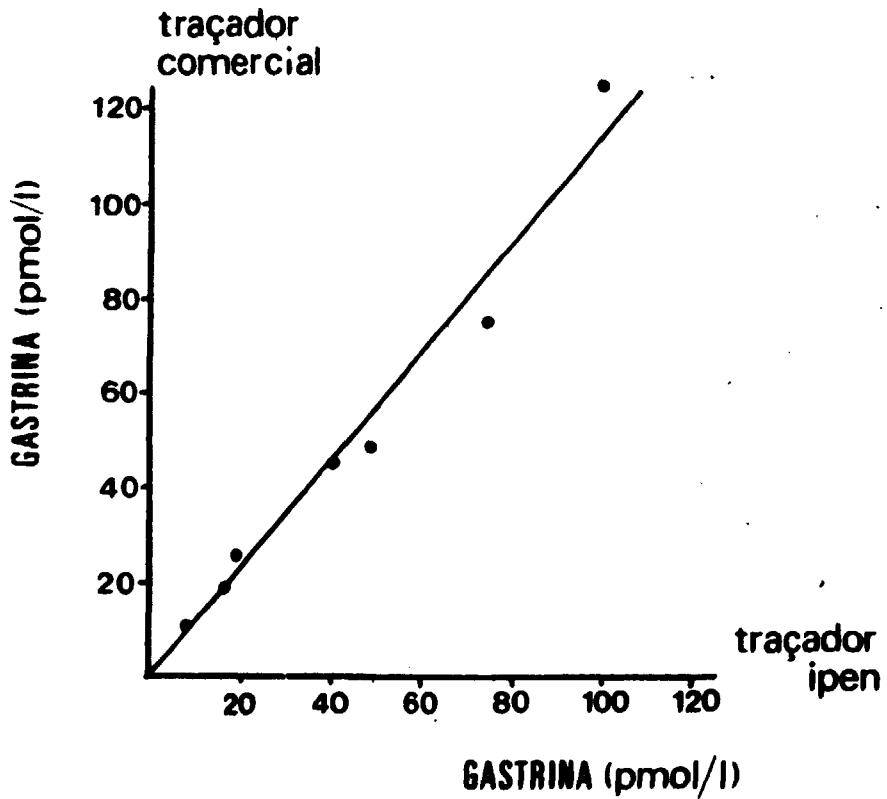


Figura 3: Estudo da correlação linear dos valores de gastrinemia de amostras controle quando dosadas em ensaios realizados com os traçadores IPEN e comercial. A reta que melhor se ajusta é a definida pela equação $y = 1,1443X + 0,1425$.

BIBLIOGRAFIA

01. ODELL, W.D.; CHARTERS, A.C.; DAVIDSON, W.D.; THOMPSON, J.C. Radioimmunoassay for human gastrin using unconjugated gastrin as an antigen. J.Clin.Endocrinol. 28:1840-2, 1968.
02. MCGUIGAN, J.E. Immunochemical studies with synthetic human gastrin. Gastroenterology, 54:1005-11, 1968.
03. YALOW, R.S.; BERSON, S.A. Radioimmunoassay of gastrin. Gastroenterology, 58:1-14, 1970.
04. STADIL, F.; REHFELD, J.F. Preparation of ¹²⁵I-labelled synthetic human gastrin I for radioimmunoanalysis. Scand.J.Clin.Lab.Invest. 30:361-8, 1972.
05. WALSH, J.H. Radioimmunoassay of gastrin. In: ROTHFELD, B. ed. Nuclear Medicine in vitro. Lippincott, Philadelphia, 1974. cap 17, p.231-48.
06. RUSSELL, R.C.G.; FIELDING, L.P.; BLOOM, S.R.; BRYANT, M.G. Current problems in the measurement of gastrin release. A reproducible measure of physiological gastrin release. Postgrad.Med.J. 52: 645-50, 1976.
07. PEIG GINABREDA, M.G.; BORGHI, V.C.; BETTARELLO, A. Desenvolvimento e aplicação clínica do radioimunoensaio de gastrina humana. São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 1988 (publicação IPEN 169).
08. PEIG GINABREDA, M.G.; BORGHI, V.C.; BETTARELLO, A. Controle da qualidade da gastrina humana radioiodada para radioimunoensaio. São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 1988 (Publicação IPEN 161).
09. RODBARD, D. Statistical estimation of the minimal detectable concentration ("sensitivity") for radioligand assays. Anal.Biochem, 90:1-12, 1978.

10. RODBARD, D. Quality control for RIA. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radioimmunoassay and related procedures in medicine: proceedings of an international symposium on..., held Berlin, 31 Oct. -4 Nov., 1977. Vienna, 1978. V.2, p.21-38.