

DETERMINACIÓN DE HORMONA TIROIDEA (T₄ T-T₃T) EN LECHE MATERNA

ALAVEZ E, RODRÍGUEZ ME, RAMÍREZ R

INSITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA ; HOSPITAL GINECOOBSTÉTRICO
"RAMÓN GONZÁLEZ CORO"

. C U B A .

En Cuba está prohibido que las madres que ingieren hormona tiroidea (HT) lacten a sus hijos por su posible repercusión sobre el recién nacido (RN). Observaciones recientes han puesto en duda la necesidad de tal restricción. Por ello estudiamos 20 mujeres normales en los primeros 10 días del posparto (grupo 1); 15 entre los 15 y 60 días (grupo 3); 20 que ingerían HT en dosis sustitutiva-120 mg tiroides desecado, 100 µg de IT₄ o 1 tableta de liolevo B- en los primeros 10 días del posparto (grupo 2) y 15, entre los 15 y 60 días (grupo 4). La leche se obtuvo por medio manual o mecánico. Se determinaron T₄t y T₃t por RIA, previa separación de la grasa. Se calculó la ingestión diaria de leche del RN, sobre la base de 400-1 000 mL/día para los grupos 1 y 2 de 700 a 1 200 mL/día para los grupos 3 y 4. Se tomaron como valores de referencia inferiores, los límites de sensibilidad del método: 0,5 µg/dL para T₄t y 0,01µg/dL para T₃t (cv: 10 % y 8 %, respectivamente). La dosis sustitutiva, necesaria para revertir el hipotiroidismo neonatal, es de 10 µg/kg/d de T₄ y de 5µg/kg/d de T₃. El análisis estadístico realizado fue la prueba t de Student para 2 muestras independientes. Grupo 1. Concentración de T₄: $x < 0,5 \mu\text{g/dL}$ y de T₃: $x 0,015 \pm 0,004 \mu\text{g/dL}$ (0,013-0,032). El RN ingeriría: T₄ de 2 a 5 µg/d y T₃ de 0,052 a 0,32 µg/d. Grupo 2. Concentración de T₄: $x < 0,5 \mu\text{g/dL}$ y de T₃: $x 0,04 \pm 0,021 \mu\text{g/dL}$ (0,013-0,097). Estos RN ingerirían igual T₄ y T₃ de 0,052-0,97 µg/d. No se constataron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ambos grupos. Grupo 3. Concentración de T₄: $x 0,52 \pm 0,04 \mu\text{g/dL}$ (0,5-0,64) y de T₃: $x 0,093 \pm 0,04 \mu\text{g/dL}$ (0,013-0,16). Los niños tomarían: T₄ de 3,5 a 7,7 µg/d y T₃: 0,091 a 3,5 µg/d. Grupo 4. Concentración de T₄: $x 0,64 \pm 0,17 \mu\text{g/dL}$ (0,5-1,05) y de T₃: $x 0,082 \pm 0,058 \mu\text{g/dL}$ (0,013-0,17). La ingestión en estos RN sería de T₄: 3,5 a 12,8 µg/d y de T₃: 0,091 a 2,88 µg/d. No se constataron diferencias significativas entre estos 2 últimos grupos así como tampoco con los grupos 1 y 2 ($p < 0,05$). Se concluye que las madres que toman HT en la dosis señalada sustitutiva pueden lactar y, por lo tanto, se puede quitar la prohibición existente hasta el presente.

METODOLOGÍA DIAGNÓSTICA

DESARROLLO DE RADIOINMUNOENSAYOS PARA CUANTIFICAR TESTOSTERONA, PROGESTERONA Y CORTISOL PLASMÁTICOS CON TRAZADORES RADIATIVOS YODADOS

NISEMBAUM ALAS AT, MACHADO CURBELO AJ, SANTANDER LÓPEZ AM, CHAPÉ PUERTA SA,
CABRERA OLIVA V

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar RIAs para la cuantificación plasmática de testosterona (T), progesterona (P) y cortisol (C) utilizando trazadores radiactivos yodados.

Los radio-oligandos se prepararon según el método descrito por Nars y Hunter, modificado en el paso de la purificación. Se probaron las inmunorreactividades frente a antisueros anti-T-3CMO: BSA (INEN), anti P-3CMO: BSA (HRP/WHO) y anti C-CMO:BSA (HRP/WHO). Se obtuvieron como diluciones de trabajo 1:200 000 para la T, 1:675 000 para la P y 1:700 000 para el C. Se estudió la estabilidad en el tiempo de los trazadores radiactivos ensayando 2 formas de conservación: liofilizado y en solución etanólica a 4 °C, éstos se mostraron estables hasta 100 (T), 127 (P) y 112 (C) días luego de preparados. Los RIAs fueron validados en cuanto a sensibilidad (T:3,02 pg/tubo; P:28,17 pg/tubo y C:5,3 pg/tubo); precisión (T CV intraensayo: 4,90-6,19 % y CV intraensayo: 14,30-16,96 %; P CV intraensayo: 9,5-13,5 % y CV interensayo: 11-17,5 %) y recobrado (T:95,45-98,15 %; P:98,20-98-70 % y C:98,9-107 %). No se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los ensayos de paralelismo, en el análisis de regresión para recetas de primera clase. Además, se compararon con los RIAs del Programa de Reproducción Humana de la OMS (HRP/WHO): 200 muestras para la T, 135 para la P y 50 para el C sin encontrar diferencias significativas ($p < 0,05$) al aplicar el test t de Student para series pareadas con coeficientes de correlación altamente significativos. Estos RIAs, de acuerdo con su exactitud, sensibilidad y precisión, pueden utilizarse como ensayos de rutina en los servicios de laboratorio de Endocrinología.

PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI BET A 2 MICROGLOBULINA

DE DIOS D'EXPAUX R, RODRÍGUEZ PENDÁS B, RODRÍGUEZ GARCÍA J.C, ARRANZ CALZADO C,
DEAS RODRÍGUEZ M, GONZÁLEZ SUÁREZ R

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

La beta 2 microglobulina (B2M), es una proteína que se encuentra, en condiciones normales, en pequeñas cantidades en el suero, la orina y el líquido cefalorraquídeo, está presente en la superficie de todas las células del organismo, acoplada por una unión no covalente a la cadena pesada de los antígenos clase I del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA). Sus niveles aumentan en plasma u orina en determinadas condiciones patológicas como son: enfermedades autoinmunes como el SIDA, enfermedades linfoproliferativas donde se ha propuesto como marcador diagnóstico y pronóstico y en nefropatías tubulares, de ahí la necesidad de desarrollar métodos altamente sensibles para determinarla. Para obtener AcM anti B2M se inmunizaron 5 ratones hembras a los que se les inoculó 50µg de B2M emulsionada con adyuvante completo de Freund, a los 14 días se realizó una segunda inmunización con igual cantidad de inmunógeno con adyuvante incompleto de Freund y a los 14 días, una tercera. Al ratón que presentó el título de anticuerpo apropiado se le aplicó 3 *booster* con 20µg de antígeno los 3 días antes de la fusión, la cual se realizó en una proporción 10:1 linfocitos inmunizados con mieloma de ratón, el producto de la fusión se resuspendió con medio selectivo y se sembró en placa de 96 pozos. La presencia de AcM anti B2M fue detectada por un radioinmunoensayo (RIA) en fase líquida, se detectaron porcentajes de unión en el orden de 50-60 % de cada una de las muestras. Los cultivos de hibridomas secretores de anticuerpos específicos se clonaron y reclonaron por dilución limitante y se expandieron para su orioconservación e inoculación a ratones. Estos AcM serán caracterizados posteriormente para su futura introducción en los ensayos inmunoquímicos.

COMPARACIÓN DE ESTÁNDARES DE TIROTROPINA HUMANA DE ORIGEN HIPOFISARIO Y RECOMBINANTE PARA SU USO EN INMUNOENSAYOS

BLANCA FERNÁNDEZ S, RODRÍGUEZ GONZÁLEZ J C, SEVY GONZÁLEZ O, NISEMBAUM ALAS AT

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA (INEN); INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS Y NUCLEARES (IPEN), SAO PAULO

. C U B A - B R A S I L .

Se presentan los resultados de la comparación de 2 estándares de hTSH de origen hipofisario y recombinante suministrados por el Dr. Bartolini (IPEN, Brasil), trabajo auspiciado por la Organización Internacional de la Energía Atómica para efectuar una comparación interregional y establecer un estándar (std) de referencia. La hTSH hipofisaria (INEN) std secundaria del IRMA de producción local, fue extraída, purificada por el Dr. González (INEN, Cuba) y calibrada contra el primer std internacional por RIA con inmunorreactividad de 10,8 Uimg. La hTSH hipofisaria (IPEN) (B) es el segundo std de referencia de Brasil (lote 10890) y la hTSH recombinante (IPEN) (C), producido en células CHO (Genzyme Corp.), calibrada contra el std WHO-80-558 por IRMA y amputada en el IPEN (lote 0994A). Las 3 preparaciones fueron diluidas en suero de perro en un rango 0-60 mUI/L. Se obtuvieron curvas de desplazamiento con ED-50 y pendiente adecuados (A: 27,85, 1,010; B: 28,62, 1,007; C: 28,24, 1,007), con controles de calidad internos y externos dentro de los rangos definidos. Se ensayaron 78 sueros humanos para valorar el posible desvío por regresión lineal (A-B $r=0,995$, $pend=0,5800$; A-C $r=0,996$, $pend=0,7854$; B-C $r=0,999$, $pend=1,3534$) y el método de Bland y Altman para hallar el grado de acuerdo (A-B diferencia media (dm) = 5,97, DE=10,62; límite de acuerdo (la) ($x \pm 2DE$) -27,31 a 15,37; A-C dm=-2,20; DE=4,20, la -10,6 a 6,20; B-C dm=3,77, DE=6,59, la -9,48 a 16,88. Entre las 3 preparaciones no hubo desvíos de importancia clínica por lo que se recomienda su uso como estándares de referencia para disminuir la variabilidad interlaboratorio por la heterogeneidad de las preparaciones.

AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y RADIOIODACIÓN DE LA GLOBULINA TRANSPORTADORA DE LAS HORMONAS TIROIDEAS HUMANAS (hTBG)

BLANCA FERNÁNDEZ S, SEVY GONZÁLEZ O, SERPA MARRERO G, RODRÍGUEZ GONZÁLEZ J C, MIR NARBONA R

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

La TBG es la principal proteína plasmática transportadora de las hormonas tiroideas y en ciertas situaciones clínicas, como el embarazo, varía su concentración, por tanto es importante cuantificarla en el suero. En este trabajo se describe el aislamiento, purificación y marcaje con NaI^{125} de hTBG. Se aisló de un *pool* de suero humano normal y se purificó en 3 etapas: cromatografía de intercambio iónico en DEAE-Sephadex A-50 y filtración en gel en Sephadex G-150. La concentración de proteína se midió por el método de Lowry. La TBG se marcó por el procedimiento de la cloramina T y el trazador se purificó por cromatografía de afinidad en T_4 -CNBr-Sepharosa 4B. El rendimiento de acoplamiento de T_4 a CNBr-Spharosa 4B fue de 39 % y se enlazaron 0,97 $\mu\text{mol T}_4/\text{mL gel}$. Del aislamiento y purificación se obtuvieron como prome-

dio 3,3 mg de proteína/100 mL de suero. La TBG se identificó por HPLC en columna analítica G-2000 SW y se comparó con una hTBG comercial. Para evaluar la pureza se hizo electroforesis en gel de poliacrilamida al 7,5 % con SDS y se observó una banda de proteína que coincidió con la del patrón de hTBG comercial. En una inmunoelectroforesis se verificó su inmunorreactividad: se obtuvo un solo arco de precipitación frente a un anticuerpo anti-TBG, frente a un antisuero antitotal humano y no reaccionó con un anticuerpo anti-HSA. La TBG-I¹²³ presentó como promedio el 70 % de proteína precipitable con TCA 10 % y una actividad específica media de 15 μ Ci/ μ g. La inmunorreactividad (% Bo/T) promedio fue del 22 % y la unión no específica del 5,3 %. Según los resultados, concluimos que la TBG obtenida puede ser utilizada en el desarrollo de un radioinmunoensayo (RIA) para determinar la concentración de TBG humana en suero.

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO INMUNORRADIOMÉTRICO PARA DETERMINAR TIROTROPINA HUMANA EN SUERO CON REACTIVOS PRODUCIDOS LOCALMENTE

BLANCA FERNÁNDEZ S, RODRÍGUEZ GONZÁLEZ J C, RODRÍGUEZ CABRERA ME,
GONZÁLEZ CISNEROS D

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

Determinar tirotropina humana (hTSH) en suero mediante métodos inmunométricos sensibles es actualmente una prueba de primera línea en la evaluación de la función tiroidea. Se presentan los resultados del desarrollo y validación de un ensayo inmunorradiométrico (IRMA) tipo *sandwich* para cuantificar hTSH en suero. Se emplearon, simultáneamente, un anticuerpo policlonal anti-hTSH altamente específico unido a celulosa como fase sólida (Ac-FS) y un anticuerpo monoclonal anti-hTSH radioiodado (AcM-I125). La eficiencia media de acoplamiento en la preparación del Ac-FS fue de $1,7 \pm 0,3$ % p/p y la actividad específica media del AcM-I125 fue de 13,68 μ Ci/ μ g. Las sensibilidades analítica y funcional fueron de 0,09 y 0,2 mUI/L, respectivamente, con un rango dinámico de 0 a 60 mUI/L. La presión intraensayo fue de 21,5; 9,0; 3,25; 3,21 y 4,96 % y la interensayo fue de 11,49; 6,15; 1,05; 9,80 y 7,38 % para 5 sueros controles con concentraciones de 0,34; 1,50; 10,39; 15,72 y 34,50 mUI/L. La recuperación media obtenida fue de 106,48 %. El ensayo linealidad ($r = 0,987$) y de paralelismo no mostró diferencias significativas ($p < 0,05$). No hubo reactividad cruzada frente a LH y FSH y 0,084 % frente a HCG. Se correlacionó el ensayo con un método IRMA de referencia (NETRIA, UK), la correlación fue de: $r = 0,937$; $m = 0,896$; $b = 0,123$, para $n = 141$. El rango normal obtenido en una muestra de donantes de banco de sangre ($n = 120$) fue de 0,43 a 4,21 mUI/L (97,5 percentil). Se analizaron 103 muestras de pacientes (75 hipertiroideos y 28 hipotiroideos, el 97 % de los hipertiroideos dieron valores no detectables ($< 0,09$ mUI/L). Según los resultados, este ensayo presenta buena sensibilidad, precisión y exactitud, cumple con las características de los ensayos sensibles de TSH de segunda generación que permiten separar francamente los valores hipertiroideos e hipotiroideos de los eutiroideos.

ESTANDARIZACIÓN DE UN SISTEMA INMUNOENZIMÁTICO ELISA PARA CUANTIFICAR LIPOPROTEÍNA(A) HUMANA

PEREIRA ROCA G, REYES DURÁN A, SEUC A, ANDREU ARCE M

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

Se desarrolló una metodología para cuantificar Lp(a) humana por un ELISA tipo *sandwich* que utiliza como reactivos primarios, el antisuero policlonal anti apo (a) de conejo y el conjugado anti LDL de carnero producidos en nuestro laboratorio. El antisuero policlonal anti apo(a) utilizado en el desarrollo de este sistema no presenta reacción cruzada con el plasminógeno, el límite de detección del sistema es de 2 mg/dL. En el estudio de precisión los coeficientes de variación para los pools estudiados fueron en la repetibilidad (n = 10) 4,30; 5,63; 3,97 % y en la reproducibilidad (n = 12) 5,29; 6,44; 7,49 %. Los análisis estadísticos realizados permitieron concluir que la sensibilidad y especificidad del sistema desarrollado son superiores al 90 % y al compararlo con un método analítico comercial se determinó que el promedio de las diferencias de concentraciones calculadas por ambos métodos para cada una de las 50 muestras analizadas fue de 2,64 mg/dL y el error estándar 0,6 mg/dL, esto significa que nuestro sistema, como promedio subestima la concentración reportada por el kit comercial, esta diferencia no es significativa desde el punto de vista clínico.

EVALUACIÓN DE CONDICIONES DE RUTINA EN UN MICROELISA PARA DETERMINAR MICROALBUMINURIA

NISEMBAUM ALAS AT, GARCÍA DAFONTE G, ARRANZ CALZADO MC, RENÉ GONZÁLEZ R, GONZÁLEZ SUÁREZ RM

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

Cuantificar microalbuminuria es fundamental en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades nefrológicas, por lo cual es imprescindible mejorar la calidad analítica de los ensayos que la cuantifican. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el funcionamiento, en condiciones óptimas y de rutina (durante 1 año), de un microelisa para determinar microalbuminuria, desarrollado en el Instituto Nacional de Endocrinología, Ciudad de La Habana, Cuba. Los coeficientes de variación intraensayo (10,3 %) e interensayo (14,3 %) del control de calidad alto, así como los parámetros de la curva estándar (CV Pendiente: 16,0 %; CV ED-50:2,2 %) durante la validación en condiciones óptimas, estuvieron acordes con lo reportado para estos métodos. En condiciones de rutina se hallaron, para los controles de calidad bajo (CV intraensayo: 13,9-24,0 %; CV interensayo: 22,3-35,6 %) y alto (CV intraensayo: 6,6-14,6 %; CV interensayo: 14,0-34,9 %) variaciones aleatorias que incidieron sobre la precisión del ensayo. Se analizaron los perfiles de imprecisión acumulados tanto para las condiciones actuales como con un reajuste de la curva estándar (rango de menor

sensibilidad). Se concluye que para incrementar la robustez del método se sugiere: utilizar agua de calidad analítica tipo I, el reajuste de la curva dosis-respuesta o el desarrollo de un ELISA tipo *sandwich* si se requiere un ensayo altamente sensible.

DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA PARTICULAR PARA PRODUCIR HIBRIDOMAS SECRETORAS DE ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-TIROGLOBULINA HUMANA

RODRÍGUEZ PENDÁS B, DE DIOS D'ESPAUX R, RODRÍGUEZ GARCÍA JC, RODRÍGUEZ GONZÁLEZ JC,
GONZÁLEZ SUÁREZ RM

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. CUBA .

Se presentan los resultados obtenidos en el proceso de optimización de la metodología para producir hibridomas secretores de anticuerpos monoclonales anti-tiroglobulina humana. Se diseñaron 2 protocolos de fusión con diferentes factores de crecimiento, no utilizados anteriormente en la obtención de anticuerpos monoclonales (AcM) anti-tiroglobulina humana. Se mantuvo la proporción 10:1 linfocitos-mieloma de ratón y se exploró el efecto de la variación de las condiciones de cultivo y, en especial, el tiempo y volumen de polietilenglicol 1 500 utilizado como agente fundente. Se obtuvieron 5 líneas de hibridomas secretores estables que fueron clonados y reclonados por el método de dilución limitante. Se purificaron los anticuerpos a partir de líquido ascítico por el método de cromatografía de afinidad en proteína A Sepharosa para su evaluación posterior. Se obtuvo mayor eficiencia de formación de híbridos, así como su estabilidad en el cultivo al utilizar sobrenadante de células endoteliales como factor de crecimiento (50µg/mL). Se ensayaron los anticuerpos por radioinmunoensayo en fase líquida y el procesamiento de los híbridos se realizó según el método convencional. Estos hibridomas serán posteriormente caracterizados e introducidos en un sistema inmunoquímico para detectar tiroglobulina.

PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA TRANSPORTADORA DE ESTEROIDES SEXUALES Y SU UTILIZACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS

DEÁS RODRÍGUEZ M, ARRANZ CALZADO MC, GONZÁLEZ SUÁREZ RM

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

La concentración plasmática de la proteína transportadora de esteroides sexuales (SHBG) es el factor más importante de la regulación de la proporción de hormonas esteroideas sexuales biológicamente activas en la circulación general. Por ello, determinar esta proteína sérica proporciona una valiosa información en el diagnóstico clínico de la disfunción reproductiva y en los trastornos de la actividad androgénica. Para desarrollar un método inmunoquímico para este fin, es necesario contar con patrones de referencia y anticuerpos que permitan desa-

rollar sistemas sensibles y específicos. En este trabajo nos propusimos aislar y purificar la SHBG a partir de sangre de embarazadas y utilizarla como inmunógeno en la obtención de anticuerpos. La proteína se purificó por cromatografía de afinidad en una columna de Sepharosa acoplada a un esteroide sintético (1,2 5 alfa-Dihidrotestosterona 17 beta hemisuccinate) preparada en este laboratorio, se le aplicó un extracto enriquecido por fraccionamiento salino y se completó el proceso con una cromatografía en gel (Sephadex g-200). La calidad de la proteína purificada fue analizada por su capacidad de unión a esteroides y caracterizada por electroforesis en su forma nativa y en condiciones desnaturalizantes. Estos análisis indicaron que la preparación obtenida tenía una pureza superior al 98 %, y contaba con las características fisicoquímicas propias de la SHBG, la actividad específica fue de 5 600 ng de DHT unido por mg de proteína. Los anticuerpos, anti-SHBG fueron obtenidos en conejos siguiendo el esquema de inmunización ya estandarizado en el laboratorio. Se utilizó la SHBG-I125 con una actividad específica de 10-15 μ Ci/ μ g para medir la capacidad de unión de los anticuerpos y su especificidad frente a otras proteínas séricas. En los 6 lotes evaluados encontramos una unión específica de 30-70 % en un rango de diluciones del suero de 1:2 500-1:10 000 a 4 °C y las 24 horas de reacción. Estos resultados demuestran que contamos con reactivos de calidad para montar y estandarizar un método analítico para la determinación de SHBG sérica.

UTILIZACIÓN DE ANTICUERPOS ACOPLADOS A PARTICULAS MAGNETIZABLES EN MÉTODOS INMUNOQUÍMICOS

GONZÁLEZ SUÁREZ R, ARRANZ CALZADO MC, SANTANDER M, DÍAZ DÍAZ E

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

El uso de anticuerpos acoplados a partículas magnetizables, en los métodos inmunoquímicos constituye una alternativa tecnológica a los sistemas de separación convencionales basados en la centrifugación, lo que simplifica la ejecución de estas determinaciones analíticas y las hacen accesibles a laboratorios con escaso desarrollo tecnológico. En este reporte se presentan los resultados obtenidos con el empleo de anticuerpos antiglobulinas de ratón, purificados por afinidad, acoplados a magnetita, como reactivo de separación en un método de determinación de progesterona por ELISA. Los anticuerpos fueron producidos y purificados en el INEN, y acoplados a la magnetita activada por salinización. Se compararon la capacidad de unión de inmunoglobulinas y su funcionamiento en el sistema analítico con el de las partículas distribuidas como parte de un juego de reactivos para determinar esta hormona (*Matched Reagent Program* HRP/OMS). Se encontró que la capacidad de precipitar al anticuerpo antihormona de las partículas de producción local fue 10 veces superior a las del control, que los parámetros de la curva de calibración obtenida en ambas preparaciones eran similares y que nuestro reactivo es capaz de sustituir el original en dichos juegos de reactivos en el análisis de las muestras. Estos resultados preliminares indican que la tecnología desarrollada por nosotros para este fin es eficiente y su desarrollo ulterior permitirá extender el uso de este sistema a los diversos métodos isotópicos y enzimáticos actualmente en uso en el INEN.

GENERACIÓN DE HIBRIDOMAS SECRETORES DE ANTICUERPOS MONOCLONALES CONTRA LA GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA

RODRÍGUEZ PENDÁS BV, DE DIOS D'ESPAUX R, RODRÍGUEZ GARCÍA JC, ARRANZ CALZADO MC, MARTÍNEZ S, GONZÁLEZ SUÁREZ RM

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

Se presenta la caracterización de 2 anticuerpos monoclonales (AcM) (GB3 y GBB), secretados por hibridomas estables obtenidos por la fusión de la línea de ratón murino P3/X63, Ag 8,653 y células esplénicas de ratones BALB/c inmunizados con gonadotropina coriónica humana (HCG) purificada en el INEN. Los AcM obtenidos son de la clase IgG1 y presentan una constante de afinidad de $0,514 \times 10^6$ mol/L para el GB3 y $3,758 \times 10^6$ mol/L para GBB. el estudio de especificidad mostró que no existe reacción cruzada con otras hormonas hiposisarias, lo que hace posible su utilización en métodos inmunoquímicos. Se purificaron los anticuerpos a partir de los sobrenadantes de los cultivos y se emplearon en un ensayo cualitativo de la hormona. Se evaluó la presencia de HCG en muestras previamente diagnosticadas como positivas y negativas por un método de referencia, no se encontraron diferencias entre los resultados obtenidos con este anticuerpo que cuenta con las características necesarias para ser utilizado en otros sistemas analíticos ya sea solos o como combinaciones entre estos anticuerpos.

CARACTERIZACIÓN Y APLICACIÓN DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL ANTI-GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA

ARRANZ CALZADO MC, ALMEIDA RODRÍGUEZ I, RODRÍGUEZ PENDÁS BV, DE DIOS DESPAUX R, RODRÍGUEZ GARCÍA JC, GARCÍA DAFONTE G, GONZÁLEZ SUÁREZ RM

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

El principal uso de la determinación de la gonadotropina coriónica humana (HCG) es en el diagnóstico y seguimiento del embarazo en condiciones normales o patológicas. La metodología de elección para ello es la inmunoquímica con el empleo de anticuerpos monoclonales que le confieren al ensayo una alta especificidad y sensibilidad. En este trabajo se describe la evaluación del anticuerpo monoclonal B-8 obtenido en el INEN, para ser utilizado en un ensayo cualitativo, para detectar el embarazo y comparar sus propiedades con las de un anticuerpo monoclonal previamente caracterizado. El anticuerpo fue purificado por cromatografía de afinidad, a partir de líquido ascítico de ratones inoculados con la línea de hibridomas secretores. Se diseñó un ensayo cualitativo tipo *sandwich* en la placa de PVC recubiertas con un anticuerpo policlonal y con un sistema de detección basado en un conjugado antiglobulinas de ratón-peroxidasa. Se calibró el ensayo por comparación de sus resultados con los de un anticuerpo previamente caracterizado y se evaluó su potencialidad diagnóstica en 50 muestras de orina de supuestas embarazadas. Se emplearon como métodos de referencias para comparar los resultados, el tacto vaginal y la biopsia de endometrio. Se encontró una sensibilidad del 80 %

y una especificidad del 100 % en el diagnóstico. Según los resultados obtenidos, el anticuerpo empleado cumple con los requisitos necesarios para ser empleado en métodos inmunoenzimáticos para el diagnóstico precoz del embarazo.

MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE HORMONA LUTEINIZANTE UTILIZANDO UN REACTIVO DE SEPARACIÓN CON PARTÍCULAS MAGNETIZABLES

ARRANZ CALZADO MC, ALMEIDA ZALDÍVAR I, DÍAZ DÍAZ E, GONZÁLEZ SUÁREZ R

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

Se presentan los resultados obtenidos con el empleo de un reactivo de separación basado en un segundo anticuerpo a una fase sólida magnetizable en la determinación de hormona luteinizante (LH) por radioinmunoanálisis. Se utilizó un suero antiglobulinas de conejo, purificado por cromatografía de intercambio iónico acoplado a partículas de magnetita como medio de separar trazador unido al primer anticuerpo del no unido. Este método brindó resultados similares, tanto en los parámetros de la curva de calibración como en los valores de la concentración de LH que los del método de referencia empleado en el INEN. Al analizar 67 muestras de pacientes en las que la separación se efectuó por ambos métodos, se obtuvo una correlación de 0,91 y una pendiente de 0,73 entre sus resultados. La aplicación de estas partículas combinan la alta capacidad de superficie con la rápida y eficiente separación. Las partículas magnéticas, además de eliminar la necesidad del uso de la centrífuga, la cual es remplazada por la aplicación de un campo magnético, permiten el diseño de sistemas analíticos de menor costo, que requieren menor manipulación de la radiactividad y utilizan además un tiempo de separación extremadamente corto, todo lo cual las convierten en un sustituto seguro y económico de los métodos en uso actualmente.

DETERMINACIÓN DE LA GLICEMIA EN SANGRE CAPILAR POR SUMA

AYRA RIVAS M, PEREIRA ROCA G

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

Se estudiaron 80 pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus y 80 casos control de sujetos supuestamente sanos, para optimizar el consumo del reactivo glucosaoxidasa en los métodos manuales. A todos se les tomó muestras de sangre por punción del pulpejo del dedo para obtener la sangre capilar y se les extrajo sangre de la vena. La muestra de sangre capilar se diluyó en solución salina en una proporción de 1:11, se centrifugó a 2 500 r.p.m. por 10 min, y se tomaron 50 µL de sobrenadante para su montaje en microplacas de 96 pocillos con 200 µL del reactivo glucosaoxidasa. Se obtuvo la absorbancia en un lector de placas SUMA modelo PR-521. De la sangre venosa se tomó una parte para determinar la glicemia por el método de glucosaoxidasa peroxidasa (sangre total) y el resto se centrifugó a 250 r.p.m. durante 10 minutos para obtener el plasma al que se le determinó la glicemia por el mismo

método. Se obtuvo buena correlación entre los valores hallados en sangre capilar y sangre total ($p \leq 0,01$) tanto en el grupo de los pacientes diabéticos como en los casos control. Las diferencias obtenidas entre los valores de sangre capilar y plasma coinciden con los reportados en la literatura. Se corroboró con este estudio, la utilidad del equipo SUMA para determinar glicemia en sangre capilar y el ahorro considerable de reactivo que éste proporciona.

ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA

CRECIMIENTO EN PACIENTES FENILCETONÚRICOS

CHIONG MOLINA D, DAMIANI ROSELLIA, GONZÁLEZ CABRERA B, PAVÓN HERNÁNDEZ M

HOSPITAL PEDIÁTRICO DOCENTE CENTRO HABANA; INSTITUTO DE NUTRICIÓN
E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS

. C U B A .

Se estudiaron, en un corte transversal, 19 niños con diagnóstico de fenilcetonuria atendidos en la Consulta Externa del Hospital Pediátrico Docente Centro Habana en edades comprendidas entre 2 y 15 años para evaluar el crecimiento y estado nutricional de estos niños sometidos a dietas restrictivas desde su diagnóstico. A todos se les evaluó el peso, la talla, el índice de masa magra e índice de tejido adiposo. Los percentiles de talla se compararon con la talla esperada para una población normal. La mayoría de los niños se encontraba en percentiles de talla superiores al 50. No encontramos diferencias significativas al compararlos con los percentiles de talla esperada para una población normal. Los índices de masa magra y tejido adiposo se comportaron dentro de rangos normales. En conclusión, no encontramos afectación de la talla ni el estado nutricional en los pacientes fenilcetonúricos.

VALORACIÓN CLÍNICO-HORMONAL DEL NIÑO HIPOPITIUITARIO

SEGUNDO ROMERO O, CARVAJAL MARTÍNEZ F, GÜELL R, SEUC A

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

. C U B A .

Se revisaron 51 historias clínicas de niños hipopituitarios para correlacionar los hallazgos clínicos con los hormonales. Se recogieron, en la planilla de datos, los valores hormonales de los distintos ejes explorados. Se calculó la media, desviación estándar, rangos y medianas para las variables cuantitativas, porcentaje y frecuencia para las cualitativas. Los pacientes de la raza blanca y sexo masculino fueron los de mayor frecuencia (78,4 %), la baja talla, el motivo principal de consulta (90,2 %). Al diagnóstico, la edad media y edad ósea fue de 11,6 y 5,5 años, respectivamente. El HSDS medio fue de -3,39. El hipopituitarismo selectivo a GH fue el más frecuente (49 %), seguido al déficit de Gn, TSH y ACTH. El 59 y 60 % de los pacientes con déficit de TSH y ACTH, respectivamente, no manifestaron evidencias clínicas de los déficit. En varones con genitales externos normales, en los cuales se sospechó déficit de Gn debido al retraso puberal, se comprobó éste en el 75 %.