

Electroforesis capilar para el análisis de marcadores oncohematológicos en el Instituto de Hematología e Inmunología

Capillary electrophoresis for the analysis of oncohematological markers at the Institute of Hematology and Immunology

Al Director:

La separación de moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) según su tamaño, es una herramienta que destaca dentro de la biología molecular, pues el análisis de los fragmentos derivados de esta técnica, permite evaluar importantes propiedades de los genes, como su organización o alteraciones relacionadas con diferentes enfermedades¹. Por todo lo anterior, la electroforesis de ADN se considera un procedimiento esencial en los laboratorios de biología molecular.

Esta técnica consiste en la migración de moléculas cargadas a través de soluciones, bajo la influencia de un campo eléctrico. Muchas moléculas biológicamente importantes (aminoácidos, péptidos, proteínas, nucleótidos, ácidos nucleicos) poseen grupos ionizables que a un pH determinado, existen como especies cargadas en solución. Estas moléculas se separan en función de su carga cuando se aplica un voltaje a través de dos electrodos ².

En la actualidad se conocen tres formas fundamentales: la electroforesis en gel horizontal o vertical, la electroforesis capilar y los dispositivos microfabricados.

La electroforesis en gel, que puede ser de agarosa o de poliacrilamida, es una de las más utilizadas para la separación de ácidos nucleicos en los laboratorios de biología molecular. Los geles están formados por un retículo de polímeros (formando una malla tridimensional) y el líquido intersticial en el que se encuentra inmerso. Los geles poseen poros de diferentes dimensiones moleculares, que delimitan la velocidad de traslado y el volumen de las moléculas durante el proceso electroforético. De esta forma, la separación no sólo se produce por las diferentes cargas de las moléculas, sino también por las diferencias en tamaño.³

El bromuro de etidio es ampliamente utilizado para la visualización de ADN y el ácido ribonucleico (ARN) en la luz ultravioleta. Sin embargo, este es un reactivo altamente tóxico, con propiedades mutagénicas, por lo que debe ser manejado con extremo cuidado en el laboratorio.³

Generalmente, la electroforesis en gel consume más tiempo y mayor cantidad de muestra, tiene baja eficiencia, baja capacidad de análisis de muestras por unidad de tiempo, diferencias en el tiempo de migración de las moléculas y dificultades en la interpretación, al no ser capaz de identificar todos los compuestos de una muestra. Además, la electroforesis en gel es difícil de automatizar, por lo que es muy trabajosa en el momento de ejecutar múltiples muestras.¹

Se han realizado numerosos esfuerzos para incrementar la velocidad de la separación, sobre todo aplicando capas de geles muy finas, lo que permite mayor intensidad de campo eléctrico durante la separación. Las propuestas para lograrlo utilizaban capilares estrechos como columnas de separación. Con el paso de los años varios investigadores refinaron el procedimiento hasta que finalmente se comenzaron a emplear capilares de sílica fundida, en la separación de péptidos, lo que dio paso a la electroforesis capilar.⁴

Aunque la electroforesis capilar apareció por primera vez como una técnica de solución libre, los medios tamizados para las separaciones selectivas de tamaño se desarrollaron poco después. Es una técnica analítica que permite la separación y cuantificación de una amplia gama de analitos como iones, péptidos, proteínas, carbohidratos, esteroides, ácidos nucleicos, vitaminas, fármacos y células. Está basada en la migración diferencial de las moléculas sujetas a un campo eléctrico (de 100 a 500 V/cm) a través de un capilar de menos de 50 μm de diámetro. El interior del capilar se encuentra formado por grupos silanol (Si-OH), los cuales al ser desprotonados (Si-O), elevan considerablemente el potencial de hidrógeno (pH) y favorecen la presencia de analitos específicos.⁵

A diferencia de la electroforesis en gel, la electroforesis capilar es una técnica de alta sensibilidad y resolución que puede realizarse en unos minutos y que requiere pequeñas cantidades de muestra, utiliza menos reactivos y es automatizable.⁶

Debido a sus ventajas, su empleo en los laboratorios de biología molecular ha favorecido el trabajo de diagnóstico e investigación, se obtienen los resultados de manera más rápida, precisa y segura. Constituye un método muy poderoso en el análisis de los ácidos nucleicos, principalmente en los productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, siglas en inglés), la detección de mutaciones y en la secuenciación del ADN basado en la separación por tamaño en soluciones de polímeros.⁷

La electroforesis capilar fue introducida en el laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Hematología e Inmunología con el fin de visualizar de manera exacta y precisa la presencia de las mutaciones de las hemopatías que se estudian en el laboratorio. Luego de varias pruebas donde se comparaban los resultados obtenidos por la electroforesis en gel de agarosa y los obtenidos por electroforesis capilar se determinó que esta última era la más indicada para trabajar debido a la rapidez, sensibilidad y seguridad en la obtención de los resultados, sin representar un peligro para la salud de los que realizan el procedimiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Viovy JL. Electrophoresis of DNA and other polyelectrolytes: Physical mechanisms. *Rev Mod Phys.*2000;72(3):813-72.
2. Carrillo JG, Candia M C, Lugo R E, Espinoza E, Noriega J A. Evaluación de Procedimientos de Tinción para el Análisis de Proteínas por Electroforesis (SDS-PAGE). *Invurnus.* 2013;8(1):19-2.
3. López de la Mora DA, Sandoval Rodríguez AS. Electroforesis. En: Salazar Montes AM, Sandoval Rodríguez AS, Armendáriz Borunda JS. *Biología Molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud.* 2 ed. Mexico DF: McGraw-Hill/Interamericana; 2013.p.117-26.
4. Phillips TM, Kalish H, editors. *Clinical Applications of Capillary Electrophoresis: Methods and Protocols.* New York: Humana; 2013.
5. Magaña JJ, Arenas-Sordo ML, Gómez R. La electroforesis capilar como una nueva estrategia en la medicina y el diagnóstico clínico. *Rev Med Chile.* 2009 Jul;137(7):946-56.
6. Chopin Doroteo M. Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. *Investigación en discapacidad.* 2012;1(2):86-9.
7. Sekhon BS. An overview of capillary electrophoresis: Pharmaceutical, biopharmaceutical and biotechnology applications. *J Pharm Educ Res.* 2011;2(2):2-36.

Vera Ruiz Moleón, Heidys Garrote Santana, Carmen Díaz Alonso, Lesbia Fernández Martínez, Ana María Amor Vigil

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

Recibido: 7 de octubre de 2016.
Aprobado: 28 de noviembre de 2016.

Lic. Vera Ruiz Moleón. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268.
Correo electrónico: rchematologia@infomed.sld.cu