

Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa: del “Nobel” a la actualidad

Quantitative polymerase chain reaction: from the "Nobel" to the present

Heidys Garrote Santana^{1*} <http://orcid.org/0000-0002-8449-1278>

Carmen Alina Díaz Alonso¹ <http://orcid.org/0000-0001-6544-0662>

¹Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.

*DraC. Heidys Garrote Santana (rhematologia@infomed.sld.cu)

Recibido: 15/01/2019

Aceptado: 20/06/2019

Al director

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) descrita en 1983 por el científico Kary Mullis (ganador del premio Nobel), sigue siendo la técnica *in vitro* más popular para aprovechar toda la información que el ácido desoxirribonucleico (ADN) puede ofrecer en el diagnóstico o tratamiento de las enfermedades.⁽¹⁾ Es difícil pensar en otro procedimiento de laboratorio que haya tenido un mayor impacto en tantas facetas diferentes de la investigación biológica.

La PCR se basa en la capacidad de la enzima TaqADN polimerasa para sintetizar una nueva cadena deADN complementaria a la hebra molde.⁽¹⁻³⁾ Las ventajas de la PCR radican en la alta especificidad y sensibilidad, mientras que las limitaciones incluyen el agotamiento de los

reactivos, el tiempo de ejecución de los programas y los resultados falsos positivos debido a materiales contaminados.⁽²⁻³⁾

Los productos de la PCR pueden secuenciarse directamente o usarse en tecnología de ADN recombinante.⁽¹⁾ El constante perfeccionamiento del procedimiento, los datos y las plataformas digitales necesarias para llevar a cabo dicha técnica de laboratorio, posibilitan la variedad de aplicaciones que actualmente tiene la PCR.^(1,4-7)

En 1996, se desarrolló la PCR en tiempo real con la introducción del instrumento para llevarla a cabo.⁽²⁾ La PCR cuantitativa (q-PCR por sus siglas en inglés) se ha convertido en un método preciso y sensible para la detección y cuantificación de ácidos nucleicos.⁽²⁻³⁾ Superó la mayoría de las principales deficiencias de los métodos anteriores al imbricar la especificidad y sensibilidad de la PCR, con la detección del producto de PCR utilizando cebadores marcados con fluorescencia.⁽¹⁻³⁾ La señal de fluorescencia se amplifica proporcionalmente al ADN replicado y por lo tanto la concentración de ADN es evaluada en tiempo real.⁽¹⁻³⁾

Si bien el uso más difundido de la q-PCR consiste en la evaluación de la expresión génica, se han desarrollado otras aplicaciones más allá de la generación de nuevos conocimientos. La industria alimentaria, la biología, la industria farmacéutica y la salud pública se benefician con el uso de esta metodología de laboratorio.⁽³⁾ En este último campo, los ensayos de q-PCR facilitan el estudio de enfermedades infecciosas, genéticas y neoplásicas, fundamentalmente.⁽¹⁻⁶⁾

Dentro de los métodos de diagnóstico en hematología, la q-PCR constituye una poderosa herramienta no solo en el diagnóstico inicial, sino en el seguimiento de los pacientes.⁽³⁾ La estratificación de los enfermos en diferentes grupos de riesgo y el estudio de la enfermedad mínima residual (EMR) para monitorear la respuesta al tratamiento es posible gracias a la sensibilidad de esta técnica.⁽³⁻⁷⁾ Otras ventajas que posee la q-PCR con respecto a la PCR cualitativa, es que no requiere de procesamiento postPCR y el empleo de sistemas cerrados reduce el riesgo de contaminación.⁽¹⁻³⁾

La q-PCR es parte indispensable de la rutina diagnóstica en hematología. La reciente adquisición de dicha tecnología en el Instituto de Hematología e Inmunología de La Habana, posibilitará el perfeccionamiento de las estrategias de diagnóstico, mejor manejo del paciente oncohematológico y la identificación de biomarcadores en anemias hereditarias, trastornos de la coagulación y hemopatías con bases moleculares en general.⁽⁷⁾ Un elevado impacto científico,

económico y social, se estima que tendrá la puesta en práctica de dicha tecnología, que futuras publicaciones darán a conocer en la medida que nuevos conocimientos y aplicaciones prácticas se generen progresivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Koutsi A, Vervesou EC. Diagnostic molecular techniques in haematology: recent advances. *Ann Transl Med.* 2018;6(12):1-9.
2. Shipley GL. An introduction to real-time PCR. In: *Real-time PCR.* Newcastle: Taylor & Francis Group. 2006. p. 1-39.
3. Sproul AM. Real-time PCR applications in hematology. In: *Real-time PCR.* Newcastle: Taylor & Francis Group. 2006. p. 277-301.
4. Azad NA, Shah ZA, Pandith AA, Rasool R, Jeelani S. Real-time quantitative PCR: a reliable molecular diagnostic and follow-up tool for 'Minimal Residual Disease' assessment in Chronic Myeloid Leukemia. *Biosci Rep.* 2018 Oct 5;38(5). pii: BSR20180974. DOI: 10.1042/BSR20180974.
5. Hrabovsky S, Folber F, Horacek JM, Stehlikova O, Jelinkova H, Salek C, et al. Comparison of Real-time Quantitative Polymerase Chain Reaction and Eight-color Flow Cytometry in Assessment of Minimal Residual Disease in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2018;18(11):743-48.
6. Hsu CC, Huang CE, Wu YY, Chen YY, Lung J, Leu YW, et al. Quantitative competitive allele-specific TaqMan duplex PCR (qCAST-Duplex PCR) assay: a refined method for highly sensitive and specific detection of JAK2V617F mutant allele burdens. *Haematologica.* 2018 Oct;103(10):e450-e454. DOI: 10.3324/haematol.2018.187989.
7. Garrote H, Lavaut K, Amor AM, Díaz CA, Fernández L, Ruiz V, et al. Cinco décadas de la biología molecular y la citogenética aplicadas a la hematología cubana. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2017; 33(1):1-8.

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de interés.



Contribución de los autores

Los autores participaron en la concepción, análisis y discusión de los resultados y han leído, revisado y aprobado el texto final del artículo.