

Ensayo cometa

Comet assay

Luis Yamunaqué-Castro ^{1,a}, Fernando Rafael García-Bracamonte ^{2,b}, Luis Miguel Serquén-López ^{2,a}

Los agentes genotóxicos (citostáticos, radiaciones, ciertos insumos químicos, etc.), causan daño a la estructura ADN, pudiendo generar rupturas en cadenas simples o dobles; y como consecuencia, introducir mutaciones en genes responsables del correcto funcionamiento celular.

Una de las pruebas de laboratorio para evaluar el daño genotóxico por estos componentes es el “ensayo cometa o técnica de electroforesis unicelular”; el cual permite medir la magnitud del daño mediante la visualización de núcleos de células sanas comparadas con aquellas que han sido expuestas. Estas últimas, debido a la fragmentación del ADN, se visualizan en forma de cola de cometa, a través de microscopía de fluorescencia. Previo a la observación, la muestra de células deberá ser concentrada y tratada para someterlas a una corrida electroforética en microgeles, y luego tefirlas con bromuro de etidio⁽¹⁾. Ver figura.

Se realizó el procedimiento para evaluar el daño del ADN de linfocitos humanos mediante la prueba de ensayo cometa, según procedimientos previamente descritos ^(2,3). Las células mostradas en las microfotografías de la figura, fueron tratadas con diferentes concentraciones de H₂O₂ durante 10 minutos; luego de la electroforesis y tinción con bromuro de etidio a 20 ug/ml, se visualizaron los núcleos mediante microscopía de fluorescencia con filtros de 510 nm de absorción y 595 nm de emisión. Se observó que el daño del ADN fue proporcional a la concentración del H₂O₂, evidenciándose por el aumento del tamaño de la cola. El daño se mide en una escala de puntuación del 0 al 4, según lo propuesto por Collins *et al.* ⁽⁴⁾.

¹. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

². Laboratorio de Biología Molecular, Hospital Regional Lambayeque, Chiclayo, Perú.

^a. Biólogo.

^b. Tecnólogo médico.

Correspondencia: Luis Miguel Serquén-López

correo : lmserquen@gmail.com

<https://doi.org/10.37065/rem.v5i3.374>

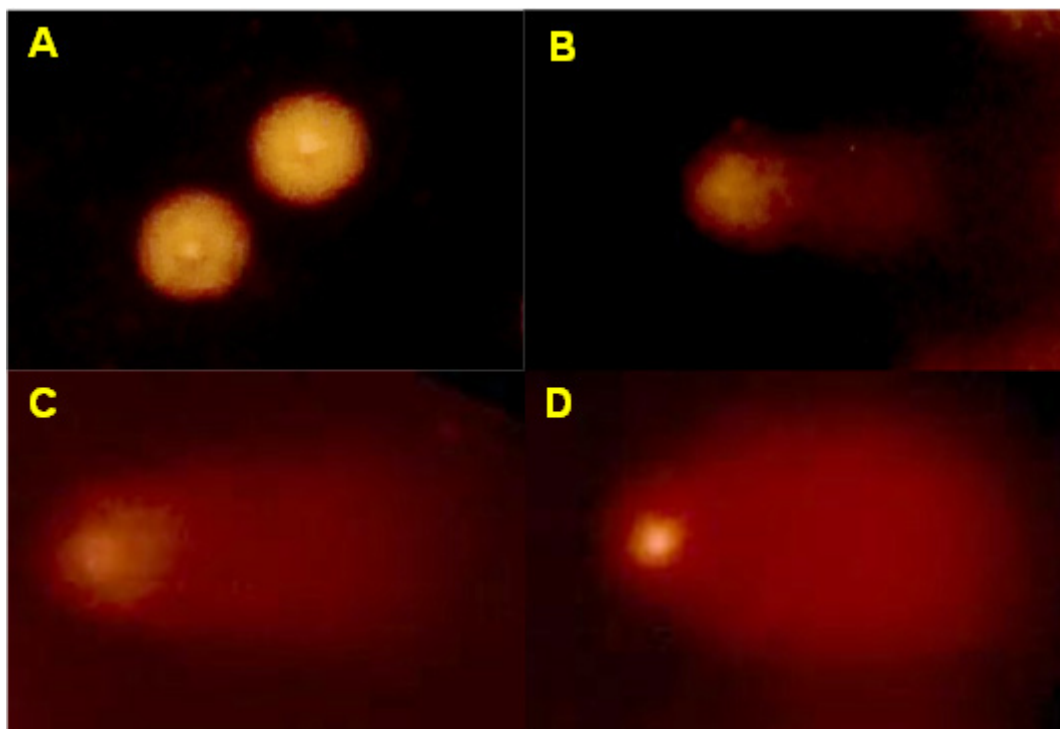


Figura. Microfotografías de fluorescencia de núcleos de linfocitos humanos tratados experimentalmente con peróxido de hidrógeno, mostrando distintos grados de daño del ADN (400 aumentos): A) control (no tratado), B) peróxido de hidrógeno 100 uM, C) Peróxido de hidrógeno 200 uM y D) Peróxido de hidrógeno 300 uM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA :

1. Azqueta A, et al. DNA repair as a human biomonitoring tool; comet assay approaches. *Mutat Res Repair*. 2019; 781:71-87
2. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*. 1988; 175(1):184-91.
3. Santoro R, Ferraiuolo M, Morgano GP, Muti P, Strano S. Comet assay in cancer chemoprevention. *Methods Mol Biol*. 2016; 1379(1):99-105.
4. Collins AR, Ai-guo M, Duthie SJ. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells. *Mutat Res Repair*. 1995; 336(1):69-77.