

Validación de un método por HPLC para la cuantificación de Cisteína en plasma

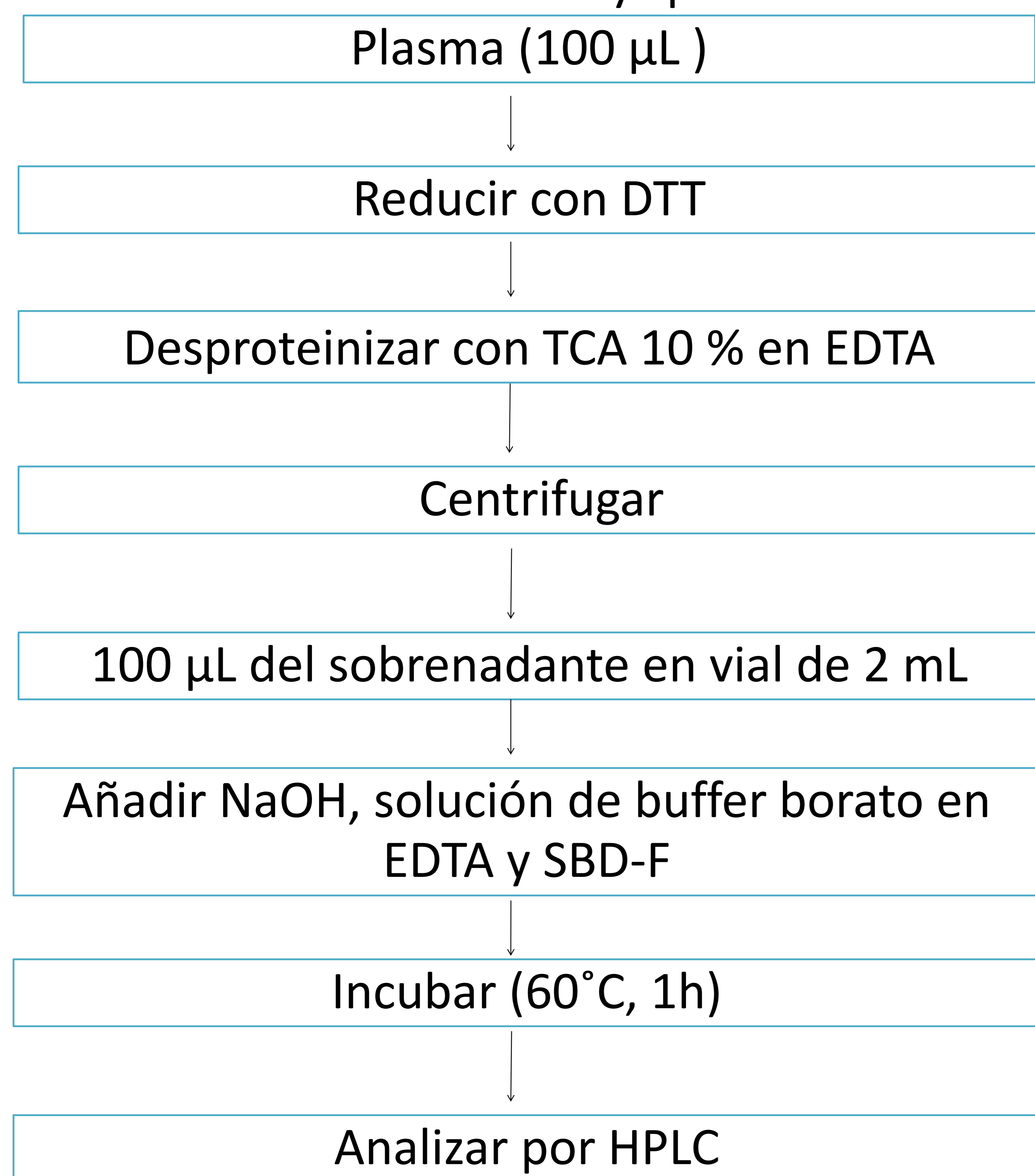
Alina Concepción Alvarez, Gretell Riverón Forment, Ivette Camayd Viera
Centro Nacional de Genética Médica, Cuba

Introducción

La cisteína (Cys) es un aminoácido no esencial con un grupo sulfidrilo en su estructura. Este aminoácido participa en varias vías metabólicas, incluyendo la síntesis de glutatión a partir de la cistationina. El desbalance en los niveles de este aminoácido se encuentra asociado a enfermedades genéticas, multifactoriales y condiciones fisiológicas. Además este marcador es incluido en la evaluación del estrés oxidativo de pacientes con desórdenes metabólicos. Introducir un método para la cuantificación de este aminoácido permitirá contar con un nuevo marcador en el diagnóstico de este grupo de enfermedades y patologías, así como incorporar un nuevo servicio al Centro Nacional de Genética Médica. El objetivo de este trabajo es validar un método por HPLC para la cuantificación de cisteína en plasma.

Materiales y Métodos

Cuantificación de Cys por HPLC



Condiciones cromatográficas

Columna	RP-18 modelo LiChrospher (l=250 mm, d=4,6 mm, 5 µm de tamaño de partícula)
Temperatura de la columna	30 °C
Fase móvil	FMA: KH ₂ PO ₄ (20mM, pH=2,1) : ACN (5%)
Flujo de la fase móvil	1 mL/min
Detección (Fluorescencia)	λ excitación=385 nm, λ emisión=515 nm

Parámetros de validación: sensibilidad, efecto de arrastre, linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y cuantificación

Resultados

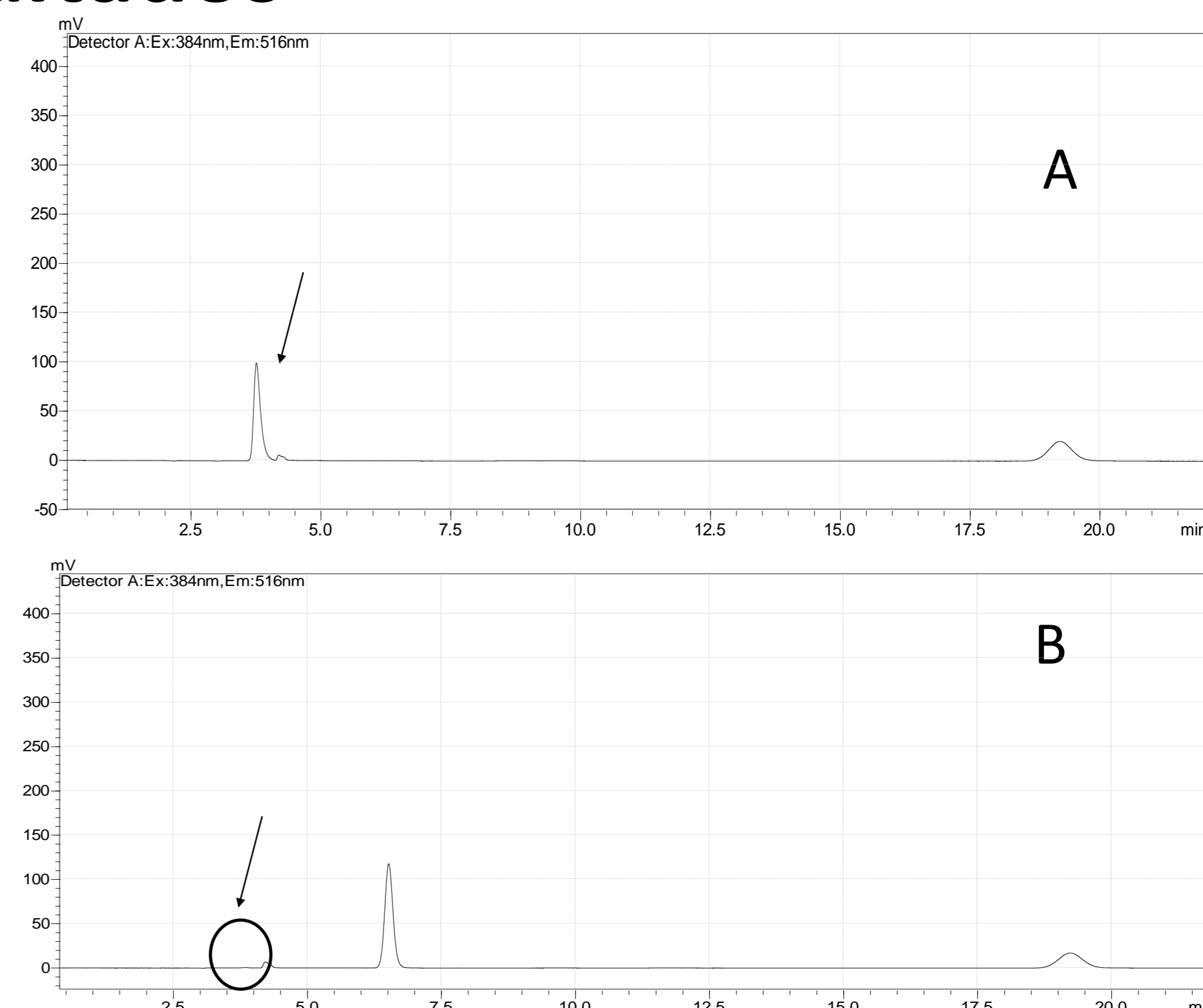


Figura 1. Cromatogramas obtenidos en matriz con patrón de Cisteína (A) y matriz blanco sin Cisteína (B). Las flechas indican el pico correspondiente a la Cisteína.

Tabla 1. Resultados de los parámetros de validación (CV: Coeficiente de Variación)

Linealidad	
Ecuación	$y=283.2x+4505$
r^2	0.992
Exactitud	
Factor de recobrado (media %)	90.42
CV (%)	10.11
Precisión	
Intra- ensayo (CV %)	12.08
Inter- ensayo (CV %)	11.05
Límites	
Detección (µM)	2.5
Cuantificación (µM)	5.0

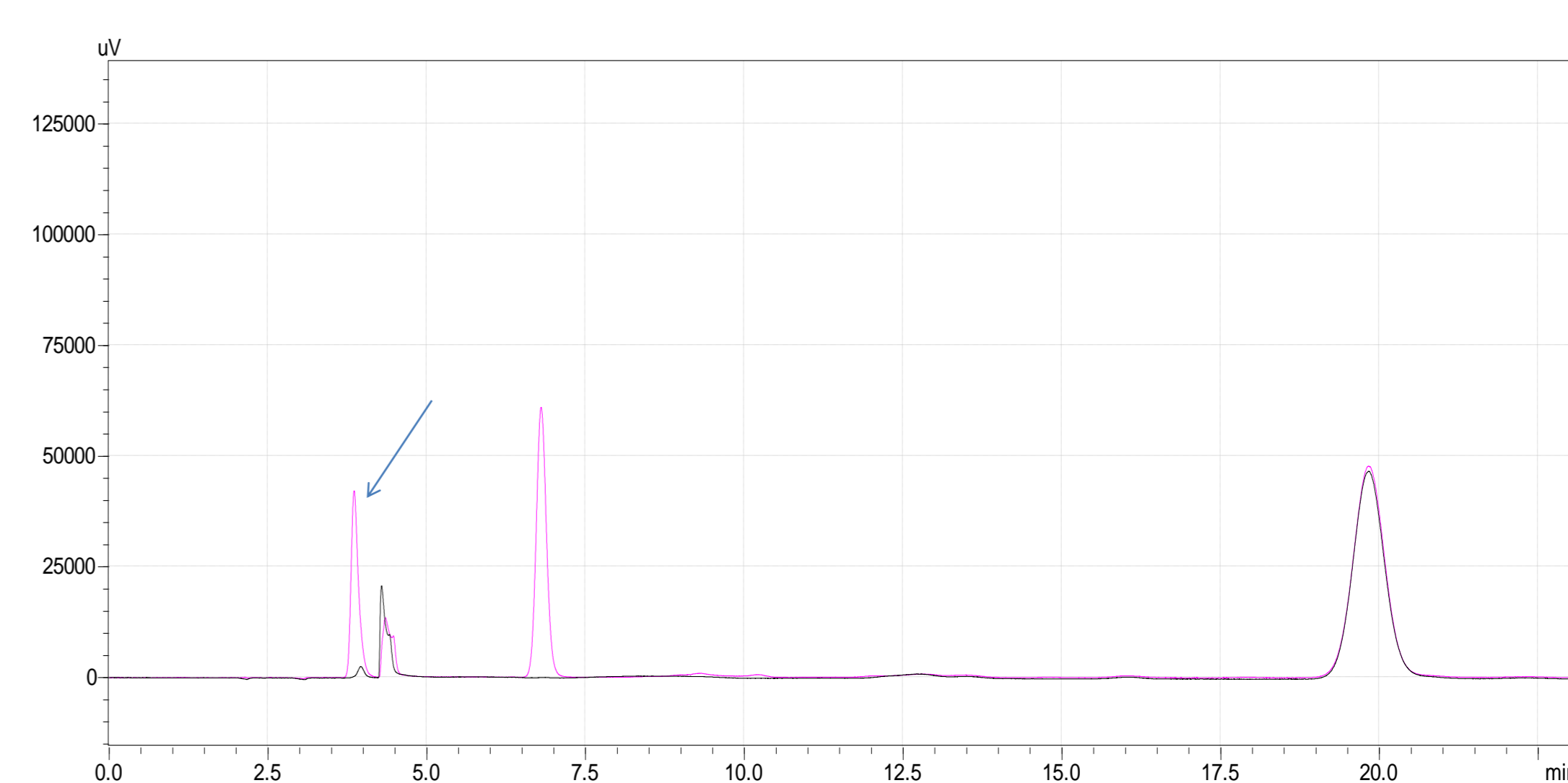


Figura 2. Cromatogramas obtenidos en plasma cargado con patrón de Cisteína (rosado) y plasma blanco (negro). La flecha indica el pico correspondiente a la Cisteína.

Conclusiones

El método desarrollado para la cuantificación de Cys en plasma cumple con los criterios de validación.

Impacto social: Incluir este marcador en metodologías de diagnóstico de enfermedades genéticas, multifactoriales y condiciones fisiológicas, así como en la evaluación del estrés oxidativo de pacientes con desórdenes metabólicos.

Impacto económico: Disponer con una nueva posibilidad de diagnóstico, que puede brindar la Red Nacional de Genética Médica y a otras instituciones dentro y fuera del país.