**N°: 19**

**EVALUACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE RNA PARA LA DETECCIÓN DEL TRANSCRIPTO BCR-ABL EN LA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA**

**Sánchez, S1; Jolly, V1; Martínez de Nuñez, I2,3; Molas, C3, Quiroz, A3; Rodríguez, S1; Ayala-Lugo, A1.** *email de contacto: anaayalalugo@gmail.com*

*1. Laboratorio de Genética. Departamento de Biología Molecular y Genética. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Asunción. Asunción, Paraguay*

*2. Departamento de Hematología de la Segunda Cátedra de Clínica Médica. Hospital de Clínicas. FCM-UNA. Asunción, Paraguay.*

*3. Departamento de Hematología. Hospital Central Del Instituto de Previsión Social. Asunción, Paraguay.*

**INTRODUCCIÓN**

El material que se utiliza para el estudio molecular del transcripto BCR-ABL en la leucemia mieloide crónica es el ácido ribonucleico o ARN. Para la extracción de ARN a partir de leucocitos obtenidos de sangre periférica existen varios métodos con diferentes principios, características, ventajas y desventajas que influyen en la calidad y cantidad del ARN recuperado, y consecuentemente en el estudio molecular a efectuarse.

**OBJETIVO**

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la cantidad y la pureza del ARN recuperado mediante la utilización de diferentes métodos de extracción.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Fueron utilizadas 4 muestras de soluciones madre de glóbulos blancos congeladas a -70°C que equivalían a 2 x 107 células. Se compararon la cantidad y la pureza del ARN obtenido por 3 métodos diferentes: a. *TriReagent (Molecular Research Center, INC)*, b. *MagMAXTM-96 (Ambion)* y c. la combinación de ambos métodos. Para la determinación de la concentración de ARN se midió la absorbancia a 260 nm por espectrofotometría y para la determinación de la pureza se midieron 2 parámetros: la relación de absorbancias 260/280 y 260/230 que reflejan la contaminación por proteínas y por solventes orgánicos respectivamente. Para el análisis estadístico se recurrió a la prueba de Kruskal-Wallis.

**RESULTADOS**

Respecto a la cantidad de ARN recuperado no se observó diferencia significativa entre los diferentes métodos. En cuanto a la pureza se observó una diferencia significativa en la relación de absorbancias 260/280 (p<0,05) y en la relación 260/230 (p<0,05).

**DISCUSIÓN** Para la detección del transcripto BCR-ABL responsable de la leucemia mieloide crónica se utilizan técnicas de biología molecular. Para el éxito de estas técnicas un factor decisivo es la calidad del material a utilizar, siendo la pureza del ARN un parámetro fundamental en el momento de elegir un método de extracción. Se discuten también otros parámetros relacionados a las características inherentes de cada método pero que deben ser tomados en cuenta, como son: el máximo volumen de sangre permitido, directamente relacionado con la cantidad de glóbulos blancos del paciente al momento de la toma de muestra y la presencia de ARN *carrier* en algunos métodos de extracción, ambos factores críticos en la optimización y aplicación de los métodos de extracción.