

## RESUMEN

La Leucemia Mieloide Crónica es un trastorno mieloproliferativo que compromete seriamente la salud y el estilo de vida del paciente que la padece. De no ser detectada a tiempo la evolución de la misma puede conducir a un final letal. Por ello es importante el inicio de la terapia después de un diagnóstico oportuno.

Las principales opciones farmacológicas incluyen INFa y los ITK: imatinib, dasatinib y nilotinib. Éstos constituyen un grupo terapéutico específico cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir la actividad catalítica de la principal causa molecular de la LMC, la oncoproteína BCR-ABL1 cuya presencia se debe al Cromosoma Filadelfia.

La mayoría de los pacientes presenta resultados positivos con los ITK. Sin embargo, cerca del 20% puede no responder correctamente debido a resistencia. La principal causa de resistencia a fármacos en la LMC se debe a la presencia de mutaciones en el dominio quinasa de ABL1. De las casi 90 mutaciones de resistencia conocidas hasta el momento, sólo una confiere resistencia simultáneamente a los tres ITK disponibles en el mercado en la actualidad. Se trata de la mutación T315I.

La detección de esta mutación se puede hacer mediante ARMS-PCR convencional como se propone en el presente trabajo. Para ello, se requiere del diseño de 3 oligonucleótidos, uno inespecífico y 2 alelo-específicos en los que se introducen intencionalmente cambios en alguna base del extremo 3' para aumentar la discriminación y especificidad por parte de Taq DNA-polimerasa.

Para una correcta medición de especificidad y sensibilidad analíticas se requirió de un Control Positivo “homocigoto”, el cual se consiguió mediante la transformación de células competentes de la cepa DH5a de *Escherichia coli* con el vector plásmido pAULO-T315I que contiene el oncogén bcr-abl1 con dicha mutación.

El método mediante ARMS-PCR para detectar la mutación T315I resulta rápido, sencillo, confiable y económico pues no necesita de otros aparatos que termocicladores para PCR. Los productos de amplificación tampoco requieren de digestión posterior pues las bandas que se obtienen son fáciles de interpretar. Los productos de la reacción se pueden analizar directamente en geles de poliacrilamida y tinción con bromuro de etidio. El método permite la identificación de homocigotos y heterocigotos.

La especificidad analítica del método es alta a concentraciones de 0.5 a 1.0  $\mu\text{M}$  de primers. Por su parte, la sensibilidad analítica del método es de 0.03 por lo que permite identificar hasta 300 copias de control positivo por cada 10 000 copias de control negativo.

La identificación de T315I es crucial para determinar el pronóstico del paciente por parte del médico tratante. Además permite considerar la posibilidad de la opción de trasplante alogénico de células madre de médula ósea, que en última instancia constituye la verdadera cura para la LMC.