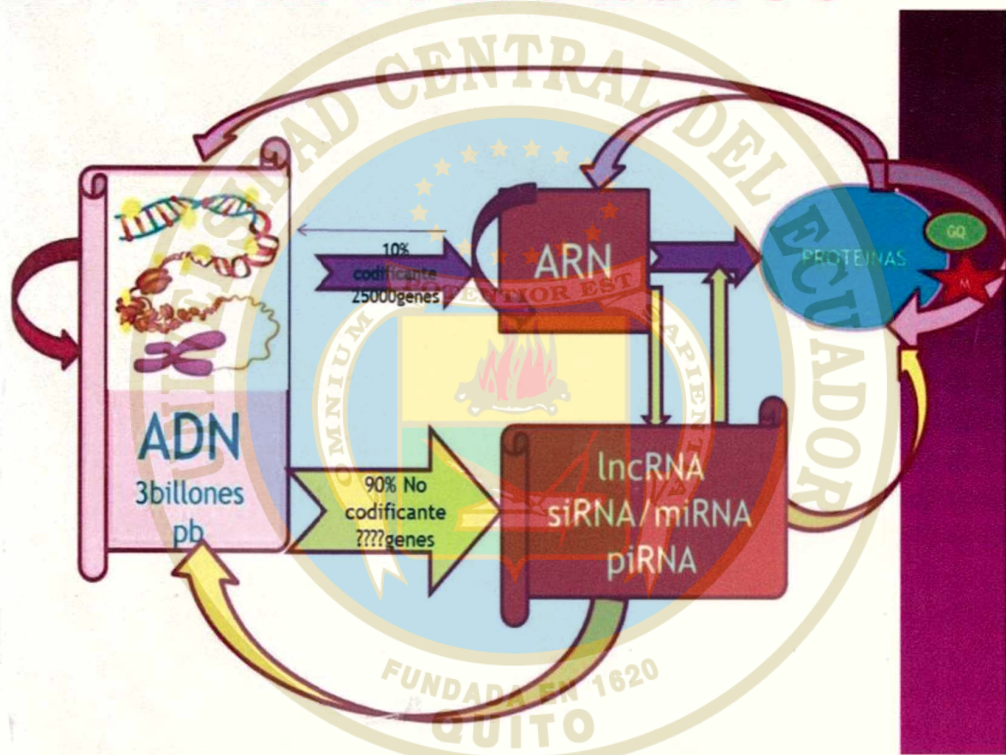


Mecanismos Moleculares de las Enfermedades



Dra Marisol Amán V
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Central del Ecuador

César Nacimba A
Médico, Universidad Internacional del Ecuador

BASE LEGAL PARA DIGITALIZACIÓN DE LIBROS CON DERECHOS DE AUTOR

El Sistema Integrado de Bibliotecas de la Universidad Central del Ecuador, digitalizará su acervo bibliográfico siempre y cuando sea para fines educativos y de investigación. No se permite la reproducción y distribución para la comercialización directa e indirecta de este.

La digitalización del material bibliográfico se lo realiza de acuerdo al Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación **Art. 212 numeral 9, Literal ii** “(...) Una biblioteca o archivo podrá, además, realizar los siguientes actos (...) La reproducción electrónica y comunicación pública de obras de su colección para ser consultadas gratuita y simultáneamente hasta por un número razonable de usuarios, sólo en terminales de redes de la respectiva institución o para usuarios de esa institución bajo su control, en condiciones que garanticen que no se puedan hacer copias electrónicas de esas reproducciones” y **literal vii** “La reproducción, adaptación, traducción, transformación, arreglo, distribución y comunicación de una obra protegida por derechos de autor o una prestación protegida por derechos conexos, en uno o más formatos accesibles para el uso exclusivo de personas con discapacidad”.

Este material se considera un producto intelectual a favor de su autor; por tanto, la titularidad de sus derechos se encuentra protegida por el Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación. La violación a dichos derechos constituye un delito que será responsabilidad del usuario.

Este libro está disponible físicamente en

Biblioteca:

Centro de Información Integral

Piso:

01

Estante:

14

Bandeja:

18

Convenio interinstitucional:

Enlace al catálogo:



Para Biblioteca 1

571.6

AM424 Aryan Villarruel, Marisol Elizabet Amán, Macimba Amán, César Germán

Mecanismos Moleculares de las Enfermedades. 1ra. ed.
Quito: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central
del Ecuador, 2017. 100 p. ; il. graf. tabs.

ISBN: 978-9942-28-542-0

1. Mecanismos

2. Enfermedades

3. Tesis

4. QUITO



Mecanismos Moleculares de las Enfermedades by Marisol Elizabet Amán
Villarruel is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

Para Biblioteca



571.6

AM484 Aman Villarroel, Marisol Elizabeth; Nacimba Amán César Germán

Mecanismos Moleculares de las Enfermedades.1ra ed.
Quito: Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Central
del Ecuador, 2017. 100 p. ; Il; graf; tabs.

ISBN: 978-9942-28-541-6

1. Mecanismos moleculares
2. Genómica
3. Transcriptómica
4. Proteómica

Repositorio digital <http://joom.ag/XBJp>

Researcher ID: N-1451-2014

©Derechos de autor: QUI-050916

Quito-Ecuador



Mecanismos Moleculares de las Enfermedades by Marisol Elizabeth Amán Villarroel is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

2716

AM484 Aman Villarreal, Marisol Elizabet; Nacimbas Amán César Germán

Mecanismos Moleculares de las Enfermedades. 1a ed.
Quito: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central
del Ecuador, 2017. 100 p.; il. graf., tabs.

ISBN: 978-9942-28-241-6



Mecanismos Moleculares de las Enfermedades by Marisol Elizabet Amán
Villarreal is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 International license.

Dra. Marisol Amán Villarroel

Docente Titular de Biología Molecular en la Carrera
de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas de
la Universidad Central del Ecuador

Doctora en Medicina y Cirugía. UCE

Especialista en Patología Clínica y Medicina de
Laboratorio . UCE

Diplomado en Educación Superior .UCE

Experta en Tecnología Educativa. FATLA

Experta en Medios digitales. FATLA

Magister en E-learning. Caribbean University

Docente de Biología Molecular en el Postgrado

de Patología Clínica, 2012-2013, FCM-UCE

Líneas de investigación: TICs en Educación Médica,

Medicina basada en evidencias del laboratorio,

URL: <http://biomolfcmuce.blogspot.com>

<http://marisolaman.wirenode.mobi>

e-mail: marisol_aman@yahoo.es

Dr. César Nacimba

Médico graduado en la Universidad

Internacional del Ecuador

Línea de investigación: Educación Médica

DEDICATORIA

Dedicamos este libro a nuestra familia, a Dios y a todos los estudiantes de medicina que lo usan como una guía práctica en su carrera.



INTRODUCCION

Este es el tercero de una serie de libros que nos permiten compartir con los estudiantes de Medicina los conocimientos prácticos en la materia de Biología Molecular, mediante varias estrategias didácticas, que en este libro se resumen para la comprensión e identificación de los Mecanismos Moleculares de las Enfermedades.

Esta premisa es importante para la segunda parte del libro donde se explica cómo este conocimiento posibilita reconocer dianas moleculares que ayudan a la estimación de riesgo, predicción, diagnóstico, y tratamiento presentes y futuros

RECONOCIMIENTO

Al Planeta FATLA que es una universidad virtual en la cual el aprendizaje es permanente e innovador.

A los doctores Juan Moreira(†) y Alberto Narváez que aplican el método de lectura crítica de artículos científicos en sus clases, a partir del cual se han realizado adaptaciones para la enseñanza-aprendizaje en la asignatura de Biología Molecular

INDICE

Introducción.....	1
El árbol de la vida	5
Semejanzas y diferencias entre procariotes y eucariotes.....	7
Prueba diagnóstica de la estructura básica de los ácidos nucleicos	8
Avances en biología sintética	10
Dogma central	12
Características diferenciales de los ácidos nucleicos	13
Esquema básico de la Replicación y sus componentes.....	14
Esquema básico de la Transcripción y sus componentes	16
Esquema básico de la Traducción y sus componentes.....	18
Cuadro comparativo general de los mecanismos moleculares.....	20
Características diferenciales de los mecanismos moleculares	21
Cuadro comparativo de la Replicación	22
Cuadro comparativo de la Transcripción	23
Mecanismos Post Transcripcionales.....	24
Cuadro comparativo de la Traducción	25
Mapa mental de semejanzas y diferencias entre los mecanismos moleculares	26
Mecanismos Post Traduccionales	27
Mecanismos de regulación de la expresión génica.....	28

Epigenómica.....	31
Dogma Central actual.....	33
Identificación de los niveles moleculares en noticias médicas	34
Identificación de los niveles moleculares en artículos médicos.....	36
Consideraciones para la elaboración de los mapas mentales de los mecanismos moleculares de las enfermedades	47
En enfermedades en general	48
En enfermedades infecciosas	49
En Cáncer	50
Ejemplos de los mecanismos moleculares de las enfermedades	51
Importancia de la identificación de los mecanismos moleculares de las enfermedades	67
ADN recombinante	68
Técnicas de edición genómica	69
Medicina Regenerativa	70
Epifármacos.....	72
Ejemplos de ADN recombinante, Terapia génica, Terapia celular y Terapia con epidrogas en diferentes enfermedades	75
Referencias	91

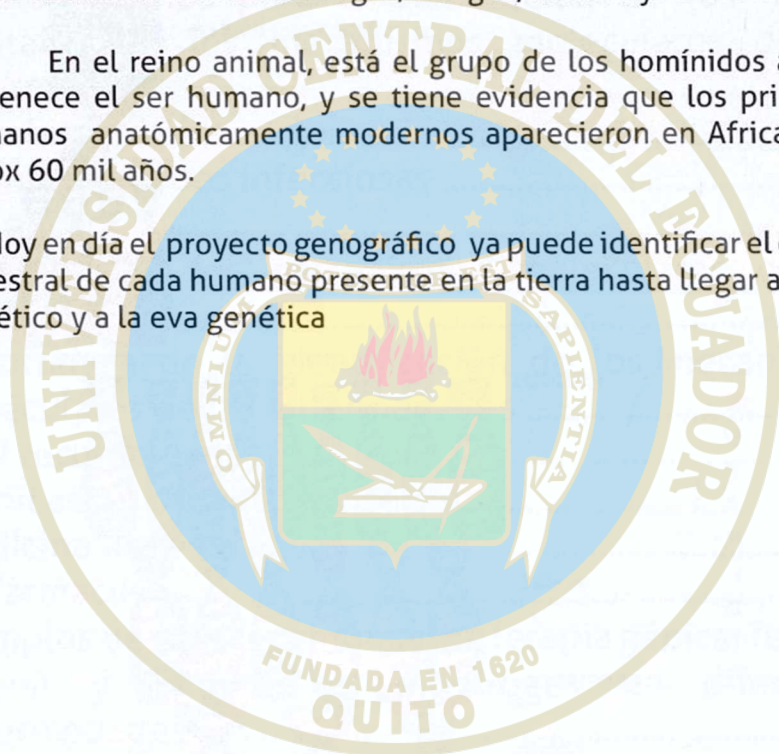
EL ÁRBOL DE LA VIDA



La infografía del árbol de la vida resume una breve introducción a la evolución, es conocido que todos los seres vivos provenimos de un ancestro común millones de años atrás, del cual se originan los primeros organismos como las eubacterias y arqueobacterias clasificados como PROCARIOTAS, y según la teoría endosimbiótica de su unión se originan los organismos más complejos o EUCARIOTAS de los cuales se derivan las Algas, Hongos, Plantas y Animales.

En el reino animal, está el grupo de los homínidos al que pertenece el ser humano, y se tiene evidencia que los primeros humanos anatómicamente modernos aparecieron en Africa hace aprox 60 mil años.

Hoy en día el proyecto genográfico ya puede identificar el origen ancestral de cada humano presente en la tierra hasta llegar al adán genético y a la eva genética



SEMEJANZAS Y DIFERENCIAS ENTRE PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS

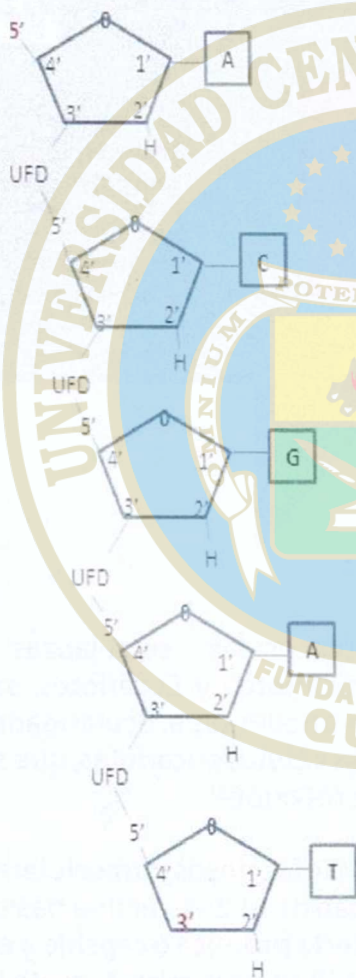


Esta infografía permite establecer las semejanzas y diferencias básicas entre los Procariotes y Eucariotes, sin embargo más adelante tomaremos en cuenta particularidades especiales de la mitocondria de las células eucariotas, que se asemeja mucho a un organismo procariote.

Sin olvidar que hay organismos infecciosos intracelulares estrictos como los virus que constan de una estructura básica como el ácido nucléico y una cubierta protéica o cápside y en algunos casos de una envoltura bilipídica proveniente de la célula huésped

PRUEBA DIAGNÓSTICA DE LA ESTRUCTURA BÁSICA DE LOS ÁCIDOS NUCLEÍCOS

Dibuje la estructura de la cadena complementaria del siguiente ácido nucleico e indique si es ADN o ARN?

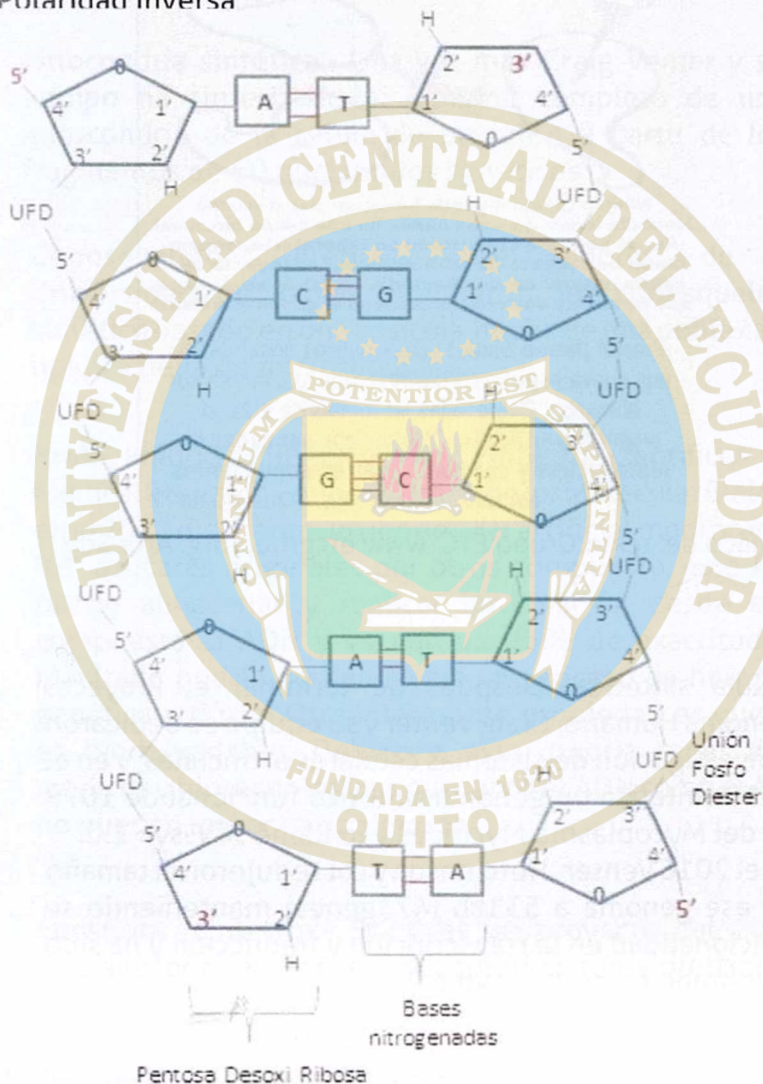


Infografía elaborada por los autores

SOLUCIÓN

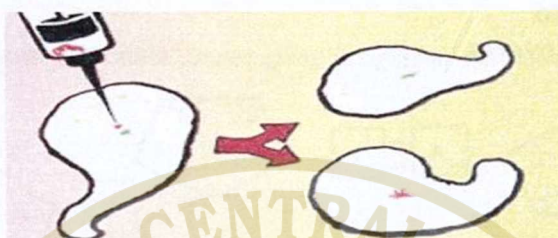
Características del ADN

- 1.- Unívoco o complementario
- 2.- Antiparalelo
- 3.- Polaridad Inversa



Infografía elaborada por los autores

AVANCES EN BIOLOGÍA SINTÉTICA



Ningún genoma puede funcionar por sí mismo. Necesita todas las otras partes de una célula funcional. Así, **el genoma construido en laboratorio, ensamblado con partes de ADN artificial, se inyecta en la célula natural de una bacteria.** La célula se divide, y una de las nuevas células contiene el genoma artificial.

¡Presto! ¡Nació Sintia! Los científicos ensamblaron una nueva especie con ADN creado totalmente por humanos. Como todas las formas de vida, el organismo artificial de Venter debe **ser capaz de reproducirse y cambiar... y allí es donde podría empezar el problema...** ¿Que opina??

Tomado de: texto:Grupo ETC www.etcgroup.org. Arte Stig

Célula sintética: Después de terminar el Proyecto Genoma Humano, Craig Venter y su equipo se dedicaron a investigación de sistemas celulares artificiales y en el 2010 sintetizó un genoma sintético funcional de 1079 kb del *Mycoplasma Mycoides* y lo llamó JCV-syn 1.0. En el 2016 Venter, Hutchinson y col redujeron el tamaño de ese genoma a 531kb (473genes) manteniendo su funcionalidad en la transcripción y traducción y ha sido nombrado como JCV-syn 3.0

Dos letras más al código genético: Floyd Romesberg y sus colegas del Instituto Scripps en La Jolla han añadido un tercer par "artificial (X-Y)" de pares de bases llamados d5SICSTP - dNaMPT que puede replicarse e incorporarse al ADN bacteriano

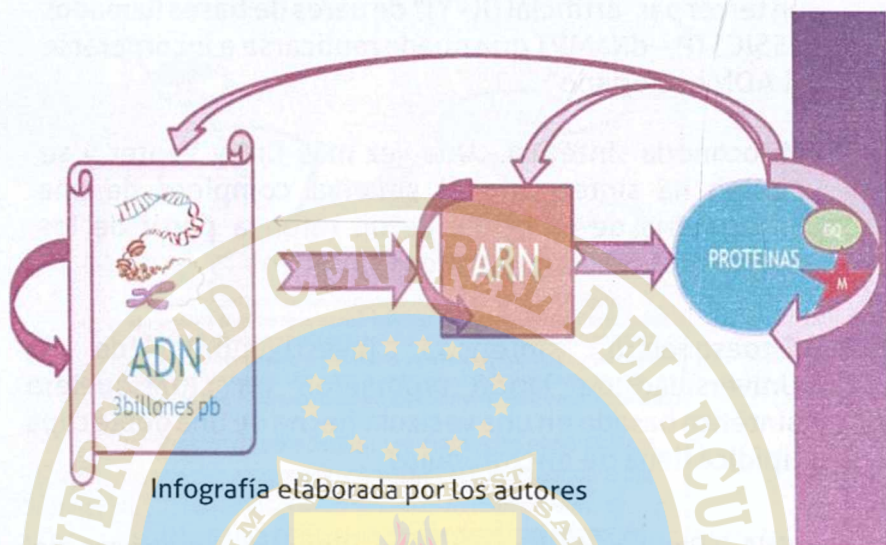
Mitocondria sintética.- Una vez más Craig Venter y su equipo ha sintetizado el genoma completo de una mitocondria de la célula de un ratón a partir de los fragmentos de 60 nucleótidos sintéticos

Citoesqueleto sintético.- Investigadores de la Universidad de Japón produjeron un citoesqueleto sintético basado en una vesícula hecha de una doble capa lipídica llena de microtúbulos

XNA.- Philipp Holliger y Vitor Pinheiro, científicos del Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology en el 2012 diseñaron un tipo de AXN artificial modificando los azúcares originales por otros compuesto, este AXN puede almacenar y replicar información desde este compuesto al ADN y vs, con un 95% de exactitud. El resultado podría equipararse a un proceso de herencia genética artificial. Otra interesante propiedad es que no es biodegradable. Debido a esto, podría tener usos médicos y biotecnológicos que tanto el ADN como el ARN no pueden lograr naturalmente.

Eucariota sintética.- Sc2.0 es un proyecto del 2011 liderado por Jef Boeke y su objetivo fue sintetizar el primer genoma entero de una levadura: Saccharomyces cerevisiae mediante el sistema SCRaMbLE

DOGMA CENTRAL



El conocimiento del Dogma Central permite entender los mecanismos moleculares básicos y los protagonistas del mismo. El ADN lleva la información genética que puede duplicarse en la Replicación, y transmitirse al ARN mediante la Transcripción y de allí a la codificación y síntesis de proteínas en la Traducción y que en Eucariotes maduran en un proceso Post Traduccional

Así mismo el ARN puede autoreplicarse o Retrotranscribirse a ADNc como sucede en cierto tipos de virus

Las proteínas finalmente en interacción con grupos químicos (GQ) como Carbohidratos, Lípidos y Micronutrientes (M) regulan a su vez estos mismos mecanismos moleculares, es decir su función es la de leer, modular, reparar, sensor, regular y ejecutar las órdenes del código genético.

Por otra parte cabe preguntarse que fue primero en la evolución? el ADN?, el ARN? o las proteínas?, hay investigaciones que señalan al ARN con la molécula inicial por su capacidad autoreplicante y de función catalítica, pero hay otras hipótesis que apoyan a la coevolución de proteínas y ARN

Pero de los 3 billones de pares de bases solo el 10% es codificante de proteínas que corresponde a 25000 a 30000 genes y el porcentaje restante es llamado ADN no codificante que tiene funciones de regulación como se explica más adelante

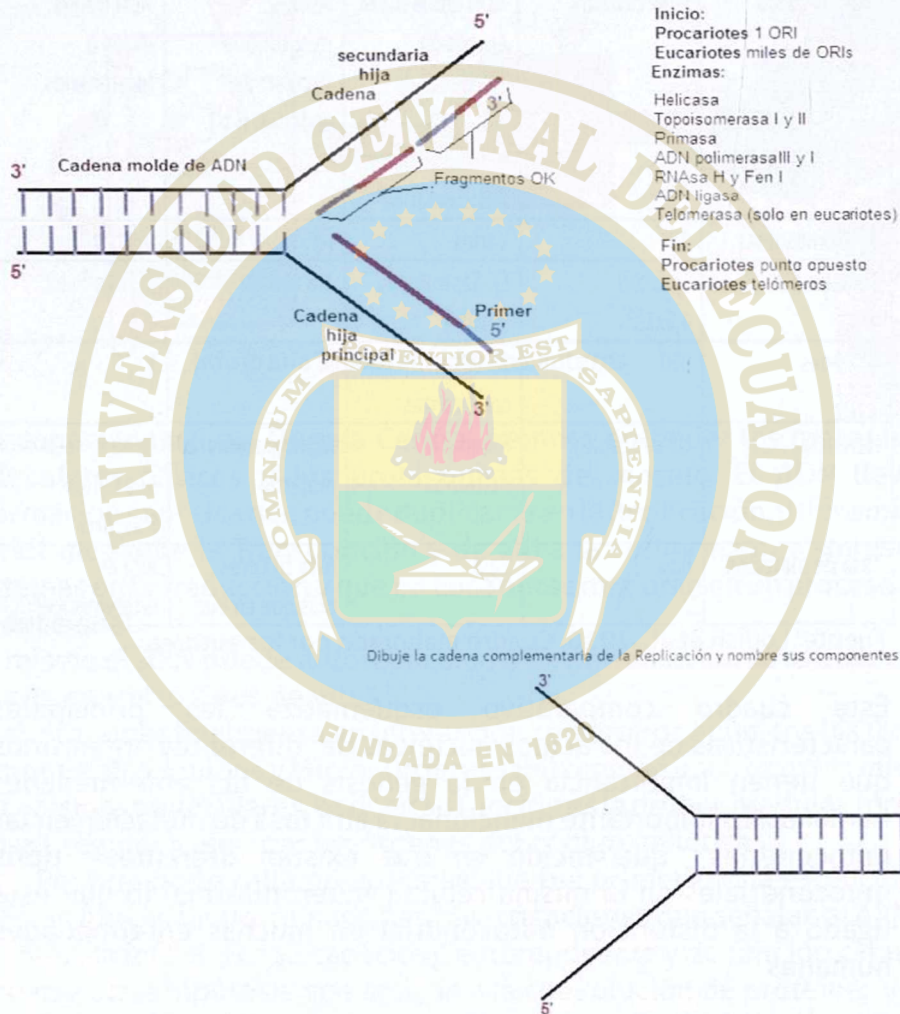
CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE LOS ÁCIDOS NUCLEÍCOS

CUADRO COMPARATIVO DIFERENCIAL				
Características	Procariotas	Eucariotas	Mitocondrias	Virus
Tipo de Ácido Nucleico	ADN circular	ADN lineal super enrollado alrededor de histonas formando hetero y eucromatina	ADN mitocondrial circular: 2 cadenas: H y L	ADN o ARN mono o bicatenarios
Nº cromosomas	1	Varios	(-)	(-)
Tamaño pb	Ej. E.coli $4,6 \times 10^6$	Ej. Ser humano 3×10^9	1.6×10^4	Ej. Fago 5×10^4
Nº genes	950	25.000 codificantes	37	1
Herencia	Un progenitor	Paterna y materna	Monoparental materna	Debe infectar a una Célula Huésped
Tasa de mutación	Baja	Baja	Alta 10 veces más que en euc	Alta en retrovirus x ej

Fuente: Lodish et al. 2016. Cuadro elaborado por los autores

Este cuadro comparativo esquematiza las principales características de los ácidos nucleicos de diferentes organismos que tienen importancia en la génesis de las enfermedades humanas. Es importante mencionar la alta tasa de mutación en las mitocondrias que incide en que existan diferentes tipos mitocondriales en la misma célula (heteroplasma) lo que está ligado a la disfunción mitocondrial en muchas enfermedades humanas

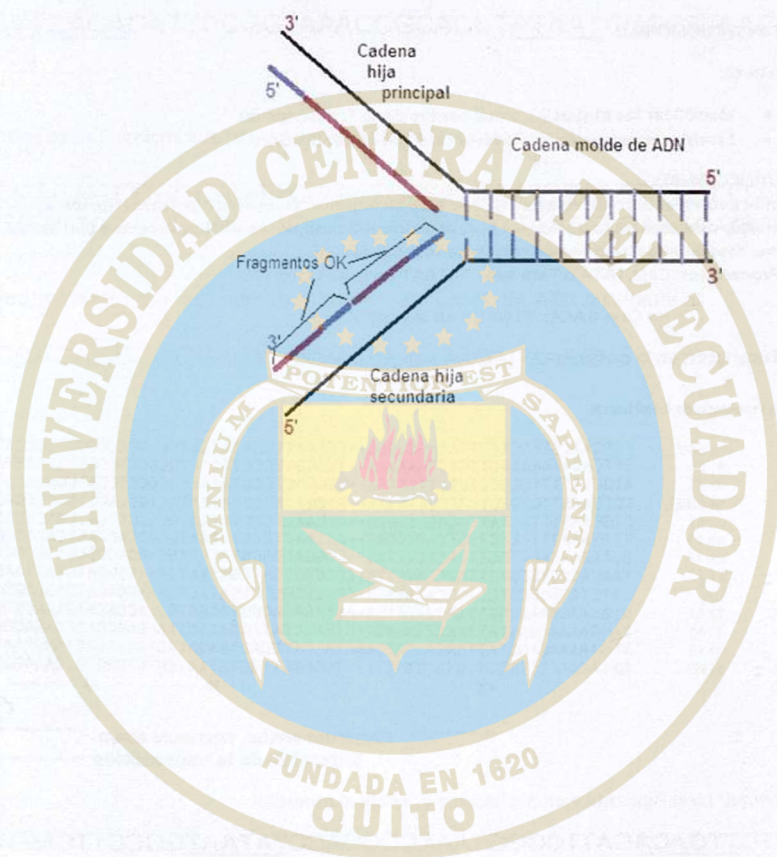
ESQUEMA BÁSICO DE LA REPLICACIÓN Y SUS COMPONENTES



Infografía elaborada por los autores



SOLUCIÓN



ESQUEMA BÁSICO DE LA TRANSCRIPCIÓN Y SUS COMPONENTES

PLAN DE CLASE DE LA TRANSCRIPCIÓN

Docente: Dra. Marisol Amán

PRE INSTRUCCIONAL:

Objetivos:

- Identificar las etapas y componentes de la Transcripción
- Establecer semejanzas y diferencias con la Replicación

INSTRUCCIONAL:

Lo indicado en el libro de referencia, a lo que se adjunta: El inicio de la Transcripción es el promotor que está en la posición +1, este es identificado por la ARN polimerasa y el factor sigma, mediante secuencias de consenso localizadas así:

En Procariotes: Caja TATA o Tata box: TATAAT en la posición -10, y

la Caja GACA: TTGACA en la posición -35

En Eucariotes: en la posición -25 TATAAA y en -75 GGACAATCT

(a) Promotores de E. coli fuertes

h ₂ IRNA	TCTCAACGTAACTTTTACAGCGGCG	CGTCATTTGATATGATCG	GCCCGCTTCCGATAAG
rrn D1	GATCAAAAAAATCTTGTGCAAAAAA	TTGGGATCCCTATAATGCCCTCGTTGAGACGACA	
rrn X1	ATGCATTTTCCGCTTGTCTTCTGA	GCCGACTCCCTATAATGCCCTCCATCGACACGCGG	
rrn (DXE)	CCTGAAATTCAGGGTTGACTCTGAAA	GAGGAAAGCGTAATATAC	GCCACCTCGGACAGTGA
rrn E1	CTGCAATTTTCTATTGCGGCTGCG	GAGAACTCCCTATAATGCCCTCCATCGACACGCGG	
rrn A1	TTTTAAATTTCTCTTGTGAGGCGG	AATAACTCCCTATAATGCCCTCCATCGACACGGAAC	
rrn A2	GCAAAAAATAATGCTTGAATCTGTAG	CGGGAAGCGGTATTATGC	ACACCCGCGCGGCTGAG
λ Pr	TAACACCGTGGTGTGACTATTTTA	CCTCTGGCGGTGATAATGG	TTGCATGTACTAAGAG
λ P _L	TATCTCTGGCGGTGTGACATAATA	CCACTGGCGGTGATACTGA	GCACATCAGCAGGACGC
T7 A3	GTGAAACAAACGGTTGACAACATGA	AGTAAACACGGTACGATGT	ACCACATGAAACGACGT
T7 A1	TATCAAAAAGAGTATTGACTTAAAGT	CTAACCTATAGGATACTTA	CAGCCATCGAGAGGSACA
T7 A2	ACGAAAAACAGGTATTGACAACATGAAGTAACATGCAGTAAGATAC	AAATCGCTAGGTAACAT	
fd VIII	GATACAAATCTCCGTTGTACTTTGTT	TCGCGCTTGGTATAATCG	CTGGGGTCAAGATGAG
	-35	-10	+1

Corriente arriba, corriente abajo

Dirección de la transcripción

Actividad: En el siguiente ejemplo localice y señale al promotor

..5'TCTTGACAGATTCCGGTAAACCGCACCTATAATGGCCTTCAGT3'..

En la siguiente secuencia identifique y señale las secuencias palindrómicas que preceden al final de la transcripción

Fin

..5'CCCACAGCCGCCAGTTCCGCTGGCGGCATTTAACTTTCTTTAA3'..

..3'GGGTGTCGGCGGTCAAGGCGACCGCCGTAAATTGAAAGAAATT5'..

POST INSTRUCCIONAL

*¿Qué sucedería si hay variaciones en las secuencias de reconocimiento del promotor y cómo se llamarían?

*Tomando como ejemplo la secuencia anterior, cual sería la secuencia del ARN resultante?

SOLUCIÓN

..5'TCT**TTGACA**GATTCCGGTAAACCGCACCT**TATAAT**GGCCT**T**CAGT3'..
-35 -10 +1

Secuencias palindrómicas que precenden al final de la transcripción

Fin
..5'CCCACAGCCGCCAGTTCCGCTGGCGGCCATTTAACTTTCTTTAA3'..
..3'GGGTGTCTGGCGGTCAAGGCGACCGCCGTAAATTGAAAGAAATT5'..
→

Tomando como ejemplo la secuencia anterior, la secuencia del ARN resultante es

..5'CCCACAGCCGCCACUUCGCGUGGCGGCCAUUUU3'



ESQUEMA BÁSICO DE LA TRADUCCIÓN Y SUS COMPONENTES

PLAN DE CLASE DE LA TRADUCCIÓN

Docente: Dra. Marisol Amán

PRE INSTRUCCIONAL:

Objetivos:

- Identificar las etapas y componentes de la Traducción
- Establecer semejanzas y diferencias con la Replicación y la Transcripción

INSTRUCCIONAL: Complete los siguientes ejercicios de aprendizaje

Marco de lectura:

...5' GCAUGUUUACGAAUUACAAUGACUAAGUU3'...

Posiciones:

1ra
A
U
C
G

2da
A
U
C
G

3ra
A
U
C
G

Decodificación de codones:



Posición de Balanceo

POS INSTRUCCIONAL

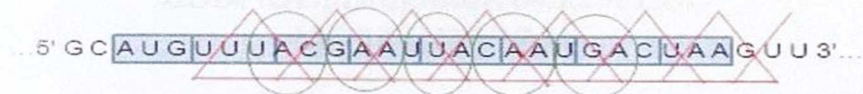
Indice

Indique cuales serían los mecanismos reguladores de la Traducción

Plan de clase elaborado por los autores

SOLUCIÓN

Codón de inicio Metionina: AUG



Marco de lectura inicial

Ejemplos de Corrimiento del Marco de Lectura o marcos de lectura superpuestos:



Los codones leídos serán diferentes y codificarán diferentes aminoácidos, el codón final ya no es el mismo, y seguirá la lectura hasta encontrar otro codón de finalización

Los codones leídos serán diferentes y codificarán diferentes aminoácidos, encuentra prematuramente un codón de finalización

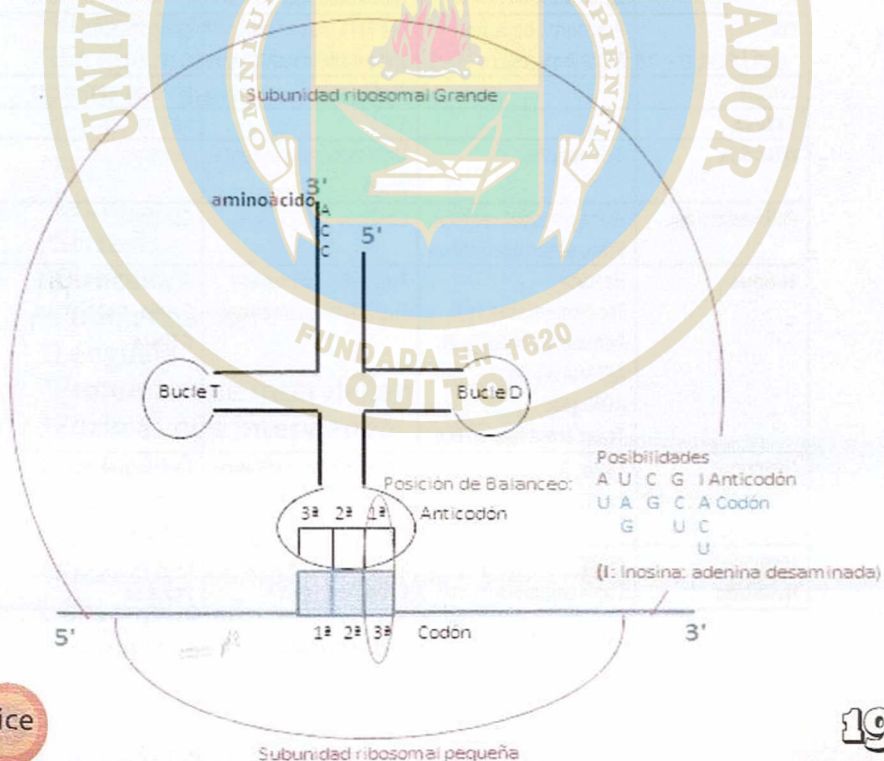
Posiciones del codón



Codones de finalización
UAA, UAG, UGA

20 aminoácidos

Procariontas 30 - 40, Eucariotas 50 - 100 ARN de transferencia



CUADRO COMPARATIVO GENERAL DE LOS MECANISMOS GENÉTICOS MOLECULARES

Una vez realizados y comprendidos los ejercicios de aprendizaje de los planes de clase de la Replicación, Transcripción y Traducción, se puede hacer un primer cuadro comparativo general de los mecanismos moleculares básicos

CUADRO COMPARATIVO GENERAL DE LOS MECANISMOS MOLECULARES			
Características	Replicación	Transcripción	Traducción
Molde	ADN	ADN	ARNm
Inicio	Pro: 1 ORI Euc: miles ORIs	Promotor precedido por sec de reconocimiento	Metionina
Fin	Pro: punto opuesto Euc: telómeros	Sec TTTT precedida por sec palindrómicas	Codones Stop
Lectura	3' - 5'	3' - 5'	5' - 3' de tres en tres
Síntesis	5' - 3'	5' - 3'	aa + aa
Dirección	Bidireccional	Unidireccional corriente abajo	Unidireccional
Polimerización	Brazo principal continua Brazo secundario discontinua	Continua	Continua
Enzimas	Helicasa, Topoisomerasas I y II, Primasa, ADN pol I y III, ARNasa H y Fen1, ADN ligasa Telomerasa solo en Euc	Pro: 1 ARN polimerasa Euc: 3 ARN polimerasas	Aminoacil sintetasa Peptidil transferasa GTPasa
Factores	Factor A	Factores sigma y Factores de Transcripción	Factores de iniciación, elongación y terminación
Lenguaje	pb a pb	pb a pb cambia T x U	pb a aa
Resultado	Copia completa	Copia de un gen	Proteína

Fuente: Lodish et al. 2016. Cuadro elaborado por los autores

CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE LOS MECANISMOS GENÉTICOS MOLECULARES

A los parámetros básicos tomados en cuenta en el cuadro comparativo general se pueden añadir otros que ayudarán a entender mejor las diferencias de los mecanismos moleculares entre procariotas, eucariotas, mitocondrias y virus

Entre las más destacadas se toman en cuenta:

- * Molde
- * Porcentaje
- * Velocidad
- * En qué lugar
- * En qué momento del ciclo de división celular se realiza o independientemente de él
- * Inicio
- * Fin
- * Lectura
- * Síntesis
- * Dirección
- * Polimerización
- * Lenguaje
- * Proteínas que intervienen
- * Enzimas que intervienen
- * Factores que intervienen
- * Secuencias de reconocimiento de inicio o de fin
- * Resultado
- * Procesos complementarios posteriores ej post transcripcional

CUADRO COMPARATIVO DE LA REPLICACIÓN				
Características	Procariotas	Eucariotas	Mitocondrias	Virus
Molde	ADN	ADN	ADN mitocondrial	*Si es ARN ingresa al citoplasma de la célula huésped y comanda la transcripción de las prot. virales
Lugar	Citoplasma	Núcleo	Mitocondria en citoplasma	*Si es ARN retroviral ingresa al citoplasma y luego al núcleo
Cuando	División celular	Fase S división celular	Constante e independiente de la división celular	convertido en ADN complementario (proviral) por la transcriptasa reversa y se integra al ADN nuclear y comanda la síntesis de prot. virales
Inicio	1 Ori	Miles Oris	2 Oris: 1 c/cadena inicia en la cadena pesada	*Si el virus es ADN se integra directamente al ADN nuclear y comanda la síntesis de prot. virales
Fin	Punto opuesto	Telómeros	El mismo Ori	Ciclo lítico: si la célula se lisa al dar lugar a nuevos virus
Lectura	3' - 5'	3' - 5'	3' - 5'	Ciclo lisogénico: si el ADN viral permanece latente en el ADN del huésped
Síntesis	5' - 3'	5' - 3'	5' - 3'	
Dirección	Bidireccional	Bidireccional	Unidireccional en c/cadena asimétrica	
Polimerización	Continua en la hebra principal. Discontinua en la hebra secundaria	Continua en la hebra principal. Discontinua en la hebra secundaria	Continua	
Lenguaje	pp - pp	pp - pp	pp - pp	
Proteínas	Prot. de localización, estabilización y activación	Prot. de localización, estabilización y activación		
Enzimas	Helicasa Topoisomerasas I y II Primasa ADN polimerasa tipo III y I ARNasa H y fen I ADN ligasa	Helicasa Topoisomerasas I y II Primasa ADN polimerasa tipo III y I ARNasa H y fen I ADN ligasa Telomerasas	Helicasa ADN polimerasa gamma Topoisomerasa I y II ARN polimerasa	
Velocidad				
Resultado	2 copias idénticas	2 copias idénticas	Miles para la fosforilación oxidativa (E)	

Fuente: Lodish et al. 2016. Cuadro elaborado por los autores

En este cuadro comparativo se deberá llenar la fila que corresponde a la velocidad de la Replicación en nucleótidos/seg y que luego se comparará con la Transcripción y la Traducción

CUADRO COMPARATIVO DE LA TRANSCRIPCIÓN

Características	Procariotas	Eucariotas	Mitocondrias	Virus
% codificante	90%	2 - 20%	90%	Depende
Tipo	Transcribe un gen (operón)	Transcribe un gen	Transcripción continua de todos los genes de tipo Prereplicativa y la usa como primer para la ADN polimerasa	Depende del tipo de virus que infecta a la célula huésped y sigue el ciclo lítico o el lisogénico
Molde	ADN	ADN	ADN mitocondrial	
Inicio	Promotor +1	Promotor +1	Promotores en ambas cadenas (L, H1 y H2), localizados en el bucle D, y se unen al Factor de iniciación mtTFA	
Secuencias de consenso o reconocimiento	-10 caja TATA -35 caja GACA	-25 y -75		
Fin	Sec de terminas precedida de sec palindrómica	Sec terminas	mtTERF	
Lectura	3' - 5'	3' - 5'	3' - 5'	
Síntesis	5' - 3'	5' - 3'	5' - 3'	
Dirección	Unidireccional	Unidireccional	Unidireccional	
Polimerización	Continua	Continua	Continua	
Lenguaje	pb a pb cambia T x U	pb a pb cambia T x U		
Proteínas que intervienen	Prot Rho Prot activadoras y represoras	Prot Rho, Prot activadoras, represoras, reguladoras, sensores y del splicing		
Factores que intervienen	Factor sigma	Factor sigma Factores de Transcripción: generales e histoespecíficos	FT mitA que se une a la sec promotora, desenreda y transcribe	
Enzimas que intervienen	Una sola ARN polimerasa completa u holoenzima	ARN polimerasa tipo I, II, III, enzimas para el casquete, cola y splicing	ARN polimerasa mitocondrial	
Velocidad				
Lugar	Citoplasma	Núcleo	Matriz mitocondrial	
Resultado N° copias	ARN funcional	ARNhh requiere maduración posttranscrip	Segun las necesidades energéticas	
Maduración del ARN	No	Si, casquete 5' y cola poli A 3', splicing: intrones y exones	No	

La velocidad de la transcripción en la *E. coli* es en promedio de 40-80 nucleótidos/seg y la traducción de 20 aa/seg y los dos procesos tienden a ser parejos porque en los procariotes se realizan de modo simultáneo. Además, esto puede variar dependiendo del tipo de organismo y condiciones como la temperatura y la longitud de los genes, por ej puede ir de 6nt/seg por ej en *S. cerevisiae* a 100nt/seg en células de mono

MECANISMOS POST TRANSCRIPCIONALES

En organismos Eucariotes, el ARN mensajero resultante llamado nuclear heterogéneo no está listo para la Traducción, y tiene que pasar por un proceso de maduración Post Transcripcional en el que es sometido a los siguientes procesos:

- * Adición de un casquete en la región 5'
- * Cola poliA en la región 3'
- * Corte y empalme alternativo: splicing para expresar Exones y eliminar intrones
- * Del procesamiento de los Intrones o lncRNA con las enzimas Dicer y Drosha se obtendrán los miRNA que ejercerán efectos regulatorios a nivel genómico como antígenos, o a nivel post transcripcional impidiendo la traducción de los ARN mensajeros

Este corte y empalme alternativo permite obtener isoformas protéicas funcionales y constituye también un mecanismo de regulación

CUADRO COMPARATIVO DE LA TRADUCCIÓN				
Características	Procariotas	Eucariotas	Mitocondrias	Virus
Molde	ARNm	ARNm	ARNm replicación en el centro y traducción en la periferie al mismo tiempo	Depende del tipo de virus que infecta a la célula huésped y sigue el ciclo lítico o el ciclo lisogénico
Inicio	CUG, AUG	AUG		
Secuencias de reconocimiento	Kozak	Shine y Dalgarno		
Fin	UAA, UAG, UGA	UAA, UAG, UGA		
Lectura	5' - 3'	5' - 3'	5' - 3'	
Síntesis	Cadena polipeptídica	Cadena polipeptídica	Cadena polipeptídica	
Dirección	Unidireccional	Unidireccional	Unidireccional	
Polimerización	Continua del marco de lectura de triplete en triplete	Continua del marco de lectura de triplete en triplete que codifica para su correspondiente Aminoácido (aa)	Continua de triplete en triplete, pero algunos tripletes no codifican los mismos aa que las Euc (código genético ligeramente alterado, difiere del universal)	
Lenguaje	pb a aminoácidos	pb a aminoácidos	pb a aminoácidos	
Proteínas que intervienen	Prot. de los ribosomas PABA	Prot. de los ribosomas PABA		
Factores que intervienen	Factores de iniciación, elongación y terminación	Factores de iniciación, elongación y terminación		
Enzimas que intervienen	GTPasas Aminoacilsintetasa Peptidiltransferasa	GTPasas Aminoacilsintetasa Peptidiltransferasa		
Velocidad				
Lugar	Citoplasma	Citoplasma	Mitocondria en citoplasma de célula	
Maduración pos traduccional	No	Si	No	
Proteínas codificadas	Ej. <i>E. coli</i> : 4289	Ej. Ser humano: 21077	13 codificantes de la cdn polipeptídica y 24 para la traducción de 2 prot. ribosomiales y 22 del ARNt	Proteínas virales

Fuente: Lodish et al. 2016. Cuadro elaborado por los autores

MAPA MENTAL DE SEMEJANZAS Y DIFERENCIAS ENTRE REPLICACIÓN, TRANSCRIPCIÓN Y TRADUCCIÓN



Con todo lo establecido en los cuadros comparativos anteriores, se puede realizar un mapa mental conformado por tres círculos que representan a la Replicación, Transcripción y Traducción, en cuyas intersecciones se identifique las semejanzas y fuera de ellas las diferencias. Por lo que se tendrá que ubicar allí:

- 5 semejanzas y 5 diferencias entre Replicación y Transcripción
- 5 semejanzas y 5 diferencias entre Transcripción y Traducción
- 5 semejanzas y 5 diferencias entre Replicación y Traducción

MECANISMOS POST TRADUCCIONALES

Una vez sintetizadas las proteínas, en los organismos Eucariotes, necesitan de un proceso de maduración y procesamiento Post Traduccional así:

- * Cortes
- * Eliminaciones
- * Adiciones
- * Plegamiento
- * Ubiquitinación

CORTES.- En lugares específicos para que esos segmentos sean eliminados

ELIMINACIONES.- Realizadas por otras proteínas de función enzimática que cortan en sitios específicos y eliminan secuencias como por ej de la metionina que en algunas proteínas solo sirvió para guiar el inicio de la traducción; algunos autores consideran que este es también un proceso de corte y empalme.

ADICIONES.- De grupos químicos como son glucosilo, lipídico, fosforilo, metilo, acetilo, etc. Es de especial importancia en los mecanismos epigenéticos de regulación de la expresión génica

PLEGAMIENTO.- Ocurre en los ribosomas asociados al retículo endoplasmático, el plegamiento alrededor de proteínas chaperonas permite darle la estructura tridimensional a las proteínas y facilitará su transporte hasta el lugar donde va a desarrollar su función.

En determinadas enfermedades hay estudios que plantean el uso de chaperonas como tratamiento para plegar aquellas proteínas anómalas y recuperar así su función

UBIQUITINACIÓN.- Una vez cumplida su función las proteínas pasan al complejo ubiquitina para su desintegración y reciclaje de sus aminoácidos

Por otra parte hay evidencia que las proteínas de algunas procariotas sufren un proceso de glicosilación post traduccional relacionado con el establecimiento de resistencia bacteriana

MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

La expresión génica en procariotas y eucariotas es regulada por factores del medio ambiente externo, interno, intracelular, extracelular e intercelular. En los procariotes la activación y represión de la expresión génica es reversible, en tanto que en los eucariotes superiores llega a ser irreversible como en el caso del desarrollo embrionario. Aquí nos referiremos a los mecanismos que regulan al ADN, ARN y las proteínas

Del ADN tanto para la Replicación como para la Transcripción

Del ARN como producto de la Transcripción y como molde de la Traducción

De la función de las Proteínas que intervienen en los tres mecanismos: Replicación, Transcripción, Traducción

Del ADN

1.- Estructura genómica del ADN:

1.1.- Eliminación de genes

1.2.- Amplificación genómica

1.3.- Genes reguladores del ciclo de división celular: positivos: proto oncogenes, negativos: p53 como ej de genes supresores tumorales

2.- Conformación o arquitectura tridimensional del ADN

3.- Modificaciones del ADN mediante grupos metilo (metilación) y miRNAs

4.- En Procariotes el Operón

De las Proteínas de la Replicación

4.- Proteínas y Enzimas que conserven su función y velocidad de polimerización

5.- Del ciclo de división celular: ej ciclinas y quinasas

6.- Recombinasas que reparan el ADN

8.- Histonas que pueden estar: acetiladas /desacetiladas, metiladas, lo que influye en la condensación y descondensación de la cromatina y por tanto en la conformación tridimensional del ADN

EN LA TRANSCRIPCIÓN

Hay que tomar en cuenta el porcentaje de transcripción tanto en procariotas (100%) como en eucariotas (60%) y de este a su vez el porcentaje codificante de proteínas (20%)

A.- Regulación en Cis:

A.1.- Promotor/es alternativos

A.2.- Secuencias de reconocimiento ej Caja TATA que pueden ser:

- Potenciadoras, aumentadoras o activadoras (enhancers)
- Silenciadoras, amortiguadoras o atenuadoras en asociación con proteínas específicas de la transcripción para disminuirla o terminarla prematuramente

A.3.- Islas CpG que en bajo porcentaje inducen la transcripción

B.- Regulación en Trans:

B.1.- En la secuencia del ADN: Sitios alternos de inicio de la transcripción

B.2.- De las Proteínas de la transcripción:

- Factores de Transcripción Generales e Histo-específicos (en eucariotes) que se unen al promotor en el ADN por dominios de fijación como x ej: Dedos de zinc, Homeodominio, Hélice-hélice y Cierre de Leucina. La mayoría de Factores de transcripción son codificados por proto oncogenes
- Proteínas reguladoras de tipo activadoras o inductoras y represoras o inhibidoras
- Proteínas sensoras o efectoras que informan del ambiente externo, regulando la respuesta cuando hay un estímulo químico-protéico (cofactores), detectado por un sensor que traduce la señal a una proteína reguladora
- Cofactores activadores y represores. Ej Hormona tiroidea
- Enzimas de la Transcripción: ARN pol que conserven su función, velocidad y estructura, por ej si cambia su subunidad alfa por otra, la transcripción se inicia en otro promotor
- Proteínas que protegen al ARN de las nucleasas citosólicas

C.- ARN resultante

C.1.- Estructura funcional de los tres tipos de ARN

C.2.- Conformación tridimensional

C.3.- Maduración post transcripcional en eucariotas, mediada por enzimas que ponen el casquete (5'), la cola poli A (3'), realizan el Splicing alternativo que sirve para dar lugar a varias isoformas de una misma proteína.

Con el splicing se obtienen Exones (que se expresan) e Intrones que a su vez forman lncRNA (largos no codificantes intrónicos) y que son procesados por enzimas tipo : Drosha, Exportina, Dicer y Proteínas argonautas, dando como resultado miRNA que mediante RISC (RNA Induced Silencing Complex) regulan o silencian a nivel genómico, traductómico y proteómico. El origen de algunos miRNA también puede ser directamente de la transcripción a partir del genoma no codificante (lncRNA exónicos).

C4.- Ribozimas: ARN con función catalítica que pueden degradar el ARNm mensajero.

En procariotes los Riboswitchs finalizan tempranamente la transcripción EN LA TRADUCCIÓN

1.- Regulación General

1.1.- Estructura y conformación tridimensional de los 3 ARN

1.2.- Número de ARNt (transferencia) 30-40 en procariotes, 50 - 100 en eucariotes

2.- Regulación Particular

2.1.- Secuencias de reconocimiento: Shine-Dalgarno en procariotas y Kozak en eucariotas que se unen a Factores de Iniciación, a Proteínas y a Sustancias Reguladoras

2.2.- Inicio de la traducción: AUG, pero en pocos casos también puede ser CUG

2.3.- Corrimiento del Marco de Lectura

2.4.- Sitios alternos de inicio de la traducción ej IRES (Sitio interno de Entrada al Ribosoma) en ciertos virus como el de la Hepatitis C

2.5.- miRNA que forma híbridos imperfectos a nivel 3'UTR e impiden la traducción

2.6.- De las Proteínas de la Traducción

- Factores de Iniciación, elongación y terminación, Los factores de iniciación que se regulan por fosforilación y responden a las señales de medio interno y externo, tóxicos como nicotina, etc

- Proteínas entre ellas las ribosomales que hoy se conoce que se unen a los lncRNA para formar los ribosomas.

- Sustancias reguladoras ej Hierro, hem, fármacos, tóxicos

2.7.- De las Proteínas Resultantes en las eucariotas que deben madurar mediante procesos post traduccionales en los que a su vez intervienen otras proteínas

- Acetilación/desacetilación y metilación de Histonas x ej como mecanismo epigenómico

EPIGENÓMICA

En todos los organismos se ha evidenciado grupos químicos que inactivan o silencian la expresión génica, sin alterar el código genético, y son de carácter reversible, por tanto constituyen Mecanismo de Regulación de la Expresión Génica que intervienen en el organismo humano tanto en procesos fisiológicos como patológicos, por ej: inactivación del cromosoma X, diferenciación de las stem cells, cáncer, enfermedades metabólicas

Como epigenómica en los Eucariotes se considera a:

- * Arquitectura tridimensional del ADN
- * Metilación del ADN
- * Modificación de las Histonas:
 - Acetilación
 - Desacetilación
 - Metilación
- * RNA no codificantes: lncRNA, siRNA o miRNA, piRNA
- * Sensibilidad a las DNAsas

Estos cambios epigenómicos dependen de la interacción con el medio interno, externo, intra celular, extra celular, intercelular, etc, ej: tipo de alimentación, actividad física, nivel de estrés que libera glucocorticoides que alteran la metilación del ADN, infecciones, fármacos, etc

Si comparamos su funcionalidad con lo que sucede en el nuestro lenguaje, algunos autores comparan a la genómica con las letras del alfabeto que pueden juntarse para formar palabras, pero que necesitan de los espacios, acentos, tildes, comas, puntos, espacios, etc, para darle sentido a la oración, esto último sería la función de la epigenómica.

Por tanto vale la pena preguntarse si estos mecanismos regulatorios intervienen en todo tipo de enfermedades? , es decir estamos seguros que en las enfermedades poligénicas y multifactoriales la epigenómica jugaría un rol importante en su génesis y su consecuencias, por ej. en diabeticos tipo I se ha encontrado una relación entre la memoria metabólica dada por variaciones de la glucosa y los cambios en la metilación del DNA (epigenética) que conllevan a complicaciones especialmente vasculares.

Entonces en aquellas enfermedades monogénicas habrá intervención de la epigenómica?

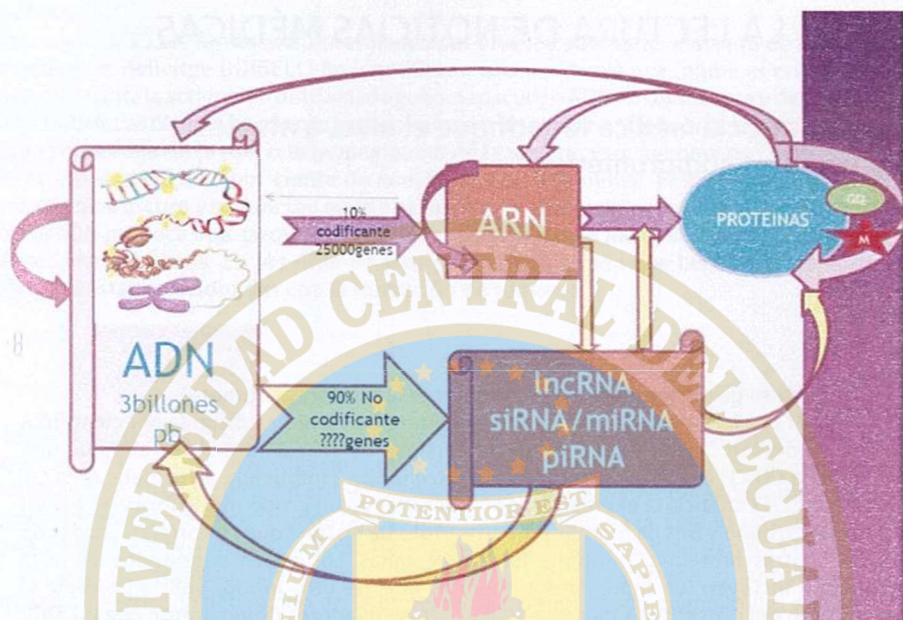
Como respuesta a esto hay investigaciones del rol de los elementos ambientales en la variabilidad de la severidad y progresión de la Fibrosis quística por ej.

En organismos como los virus se ha encontrado que realizan procesos de metilación en sus secuencias genómicas como mecanismo de evasión del sistema inmune.

El DNA mitocondrial igualmente está sujeto a modificaciones epigenéticas ligadas al desarrollo de enfermedades, al envejecimiento y al uso de fármacos

En organismos procariotas también se han demostrado diversos patrones de metilación que desencadenan significativas capacidades patogénicas

DOGMA CENTRAL ACTUAL



Infografía elaborada por los autores

Esta infografía presenta el Dogma Central como se lo conoce hoy en día, con la evidencia de que hay un gran porcentaje de ADN "no codificante para proteínas" pero sí para moléculas de ARN desde largos no codificantes (lncRNA) hasta small interferentes (siRNA) o microRNA interferentes (miRNA), cuya función regulatoria se evidencia en todos los niveles moleculares y por tanto intervienen en procesos tanto fisiológicos como patológicos. Los piRNA o piwiRNA x ej intervienen en los procesos reproductivos. Estos ARN interferentes provienen de la Transcripción directa (exónicos) como a partir del splicing en el Post Transcripción (intrónicos) Hasta el momento su efecto de regulación de la expresión génica está clasificada dentro de los mecanismos Epigenómicos

IDENTIFICACIÓN DE LOS NIVELES MOLECULARES AFECTADOS EN LAS ENFERMEDADES A TRAVÉS DE LA LECTURA DE NOTICIAS MÉDICAS

En cada noticia médica identifique el nivel o niveles moleculares comprometidos

- 1.-
- 2.-
- 3.-
- 4.-
- 5.-

1.- Demuestran que una proteína podría detener la metástasis tumoral Madrid 6/7/2011.- Un estudio publicado en *Nature Cell Biology*, dirigida por científicos del MD Anderson Cancer Center de la Universidad de Texas, ha demostrado que una proteína (la CDK1) es capaz de detener a la enzima EZH2 implicada en la metástasis del cáncer. La EZH2 silencia la expresión génica adhiriendo un grupo metil, formado por un átomo de carbono y tres de hidrógeno, a una proteína histona que, interrelacionada con el ADN y otras proteínas, compone los cromosomas. Los genes suprimidos por esta metilación incluyen los supresores tumorales que, de otro modo, podría prevenir el crecimiento del cáncer y sus metástasis. Estos investigadores demostraron que la CDK1 cortocircuita la metilación mediada por la EZH2 adhiriendo diferentes grupo químicos, formado por un átomo de fosfato y tres de oxígeno a la EZH2, en un proceso denominado fosforilación. En definitiva la fosforilación triunfa sobre la metilación, dice el autor. La versión fosforilada de la EZH2 no puede metilar la proteína histona diana, por lo que los genes reprimidos por la metilación acaban por despertar y expresarse. Por otra parte, la EZH2 juega un papel en una gran variedad de procesos biológicos. Según el investigador es crucial para el desarrollo embrionario, porque se encarga de silenciar genes, y en el proceso que guía la diferenciación de las células madre embrionarias y su conversión en tejidos y órganos.

2.- Investigadores andaluces descubren una nueva función de la proteína SEN1, que abre líneas de trabajo para enfermedades genéticas:

Sevilla: 15/1/2011.- Investigaciones de Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER) en Sevilla y de la Universidad de Oxford en Reino Unido han desvelado una nueva función de la proteína SEN1, que permite abrir nuevas líneas de trabajo para conocer enfermedades como el cáncer u otras de base genética. El equivalente de esta proteína en humanos es la senataxina, cuyas mutaciones son responsables de enfermedades neurodegenerativas como la ataxia con apraxia oculomotora del tipo II y esclerosis lateral amiotrófica juvenil. El trabajo recogido por la revista *Molecular Cell* y dirigido por otros autores de la Universidad de Sevilla, demuestran que SEN1 ejerce un papel clave en prevenir que se formen híbridos entre el ARN naciente y el propio ADN. De este modo se evita la inestabilidad genómica asociada a la expresión de genes

3.- Investigadores del IDIBELL descubren una sustancia que actúa contra el “genoma oscuro” del cáncer:

Barcelona 2/3/2012.- Un estudio coordinado por investigadores del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL) ha identificado una sustancia que inhibe el crecimiento del cáncer mediante la activación del llamado genoma oscuro o ADN no codificante y de las moléculas de microRNA. Las células de cuerpo humano poseen un genoma que codifica nuestras proteínas, como la queratina de la piel o la hemoglobina de la sangre. Este genoma con ADN codificante solo representa el cinco por ciento de nuestro material genético. El 95% restante se conoce como genoma oscuro y su función es en buena parte desconocida y en investigación. Una parte de este ADN produce una pequeñas moléculas denominadas micro RNA encargadas de activar o desactivar los genes. En los últimos años se ha demostrado que las alteraciones de estas moléculas están relacionadas con la formación de tumores

4.- Investigadores del CIS descubren un mecanismo que protege a las neuronas de la muerte celular. 3/3/2013.- Una investigación realizada por el consejo superior de Investigaciones Científicas (CSIC) ha descubierto un mecanismo que protege a las neuronas de la muerte celular programada mediante el control de la actividad de la proteína p53. Este es un factor proteico regulador de la expresión génica Scratch2, regulador de la actividad del gen p53 conocido por ser un potente supresor de tumores. La muerte cel programada o apoptosis ocurre principalmente tras la activación de la proteína p53 denominado guardián del genoma. P53 induce la muerte de la célula en respuesta a una gran variedad de stres celular y daño en el DNA. Esta proteína es necesaria durante el desarrollo embrionario, pero sin embargo está presente en el embrión, por lo que su actividad debe estar controlada para evitar una muerte celular masiva, explica la investigadora del CSIC.

5.- El humo del tabaco produce daños en el ADN minutos después de la inhalación: El humo de los cigarrillo comienza a producir daños genéticos en los siguientes minutos y no años a la inhalación en los pulmones, según un estudio del a Universidad de Minesota en que se publica en la revista Chemical Research Toxicology. El cáncer de pulmones el responsable de la desaparición diaria de vidas en todo el mundo en gran medida como resultado del tabaquismo, que se vincula con al menos 18 tipos de cáncer. La evidencia indica que las sustancias dañina del humo del tabaco, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), específicamente el fenantreno forma rápidamente una sustancia tóxica en la sangre conocida por dañar el ADN, produciendo mutaciones y alteraciones que pueden causar cáncer. Los fumadores desarrollaron niveles máximos de la sustancia en un espacio de tiempo que sorprendió incluso a los investigadores: solo entre 15 y 30 minutos después de que los sujetos dejaran de fumar. Los autores señalan que el efecto es tan rápido que es equivalente a inyectar una sustancia directamente a la sangre

SOLUCIÓN

IDENTIFICACIÓN DE LOS NIVELES MOLECULARES AFECTADOS EN LAS ENFERMEDADES A TRAVÉS DE LA LECTURA DE ARTÍCULOS MÉDICOS CIENTÍFICOS

De la misma manera que se identificó en las noticias médicas, avanzaremos a la lectura de artículos científicos para identificar los mecanismos moleculares comprometidos:

Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer

Neurobiological mechanisms of Alzheimer's disease

Romy von Bernhardi M.

As our understanding of the complexity of Alzheimer's disease improves, the biological bases underlying its pathogenesis are gradually being disclosed, and we can expect that new therapeutic targets will emerge. Many agents under investigation at this moment target the early stages of the disease process. Their aim is to prevent or at least slow down the progression towards clinical impairment. However, one of the problems research face is the distinction between primary and secondary events. The pathological mechanisms involved include the actions of beta-amyloid, the accumulation of aggregates, the inflammatory cascade, oxidative neuronal damage, tau protein alterations and the formation of neurofibrillary tangles, synaptic failure and neurotransmitter depletion. Several of these events are common to many slowly progressive neurodegenerative disorder. The familial forms of Alzheimer's, secondary to inherited mutations have provide an insight into the molecular mechanisms implicated in disease pathogenesis. Using as a starting point familial Alzheimer's disease, we will work our way up to understand the other biological mechanisms involved in the neurodegeneration of the disease.

Key words: Amyloid precursor protein, cell death, neurodegeneration, neurofibrillary tangle, oxidative damage, neuritic plaque, senile plaque.
Rev Chil Neuro-Psiquiat 2005; 43(2): 123-132

Introducción

La evidencia disponible sugiere que enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer son producidas por una combinación de eventos que impiden o dificultan las funciones neuronales normales⁽¹⁾. En ese sentido, más que considerarla una enfermedad, el Alzheimer corresponde a un síndrome. Alteraciones diversas en múltiples ni-

veles determinarían los elementos clínicos que en conjunto identificamos como "Enfermedad de Alzheimer" (EA). Este primer punto no es trivial para entender la enfermedad, ni para plantear aproximaciones terapéuticas. Muchos de quienes estudiamos los mecanismos de esta enfermedad, ya no esperamos encontrar un mecanismo biológico único que nos explique la enfermedad en su totalidad, sino que indagamos sobre una consi-

1. la acción de defectos diversos, que involucran factores genéticos, ambientales, fisiológicos y patológicos que pueden resultar en ella.

Características patológicas de la Enfermedad de Alzheimer

2. En la EA se observa una pérdida selectiva de neuronas en el hipocampo y la corteza. Los cerebros de los pacientes con EA muestran dos lesiones características: las placas seniles, o de amiloide, que son extracelulares, y los ovillos neurofibrilares, formados por proteína Tau hiperfosforilada, intracelulares. La pregunta clave es si las placas y ovillos efectivamente causan la EA o corresponden al resultado de eventos patológicos más tempranos. De hecho, en los individuos con EA, la correlación entre la densidad de placas de amiloide y la severidad de la enfermedad es pobre⁽⁷⁾. Por otro lado, si bien la aparición de los ovillos neurofibrilares muestra una correlación buena con el deterioro cognitivo, parece ser un evento más tardío⁽⁸⁾.

3. Mutaciones en 3 genes, los que presentan una herencia autosómica dominante, han sido asociadas a la EA familiar (las cuales representan menos del 5% de los casos y que en general se inicia a edades más tempranas que la forma no-familiar, denominada EA esporádica). Los genes afectados son los que codifican para el APP, la presenilina 1 (PS1) y la presenilina 2 (PS2)⁽⁹⁾. Además, el genotipo apoE4 (apolipoproteína E4) es un factor de riesgo que muestra una correlación alta con el desarrollo de EA. ApoE4 aparentemente influye tanto en la formación de depósito de amiloide-beta (A β), como en la formación de ovillos neurofibrilares. Un elemento común para la EA familiar y EA esporádica es la acumulación de A β . Debido a esto se propuso la hipótesis de la cascada del amiloide, la cual establece que la producción excesiva de A β es la causa primaria de la enfermedad⁽⁴⁾.

Hipótesis del beta-amiloide y Enfermedad de Alzheimer

Las placas de amiloide contienen productos del procesamiento de la proteína precursora del

amiloide (APP del inglés "amyloid precursor protein"), que tienden a agregarse formando sábanas beta-plegada, que son tóxicas. El APP es una proteína de membrana con una región extracelular de gran tamaño, un dominio transmembrana único y una región citoplasmática pequeña (Figura 1A). Aunque se desconoce su función con certeza, se piensa que podría tener función como un factor de crecimiento. La isoforma que se encuentra en el sistema nervioso contiene sitios de unión a heparina y a cobre. Este último podría regular la dimerización o el procesamiento proteolítico del APP, o bien podría funcionar como un transportador de metales.

4. El péptido A β se origina de la proteólisis regulada del APP por un sistema de proteasas denominadas "secretasas". El primer corte es realizado por la secretasa- α o β (asociado a la generación de péptido no amiloidogénico o amiloidogénico respectivamente), liberándose un APP soluble de gran tamaño, que contiene la mayoría de la porción extracelular, y dejando en la membrana la región C-terminal unida a la membrana. Esta parte es cortada por la γ -secretasa (Figura 1B). Varias mutaciones del APP se concentran en las regiones de corte de las secretasas, favoreciendo la generación de péptido A β y su agregación posterior (Figura 1C). Si bien la identidad de la γ -secretasa no está totalmente definida, con alta probabilidad parece corresponder a la presenilina (cuya mutación se asocia a la EA familiar como se vio anteriormente). De hecho, se ha determinado experimentalmente que con estas mutaciones aumenta la producción de A β , y que animales que carecen de presenilina tienen una producción disminuida de A β .

Todavía no está claro el mecanismo mediante el cual el A β produce daño celular. Se plantea la existencia de diversas maneras mediante las cuales podría dañar a las neuronas: activando la microglia (células del sistema inmune innato del sistema nervioso central - SNC), activando la respuesta inflamatoria y liberación de citoquinas neurotóxicas y produciendo daño oxidativo en células vecinas, induciendo mecanismos de apoptosis, dificultando la perfusión⁽³⁾ por la

1.- Alteraciones en múltiples niveles, indicando los genéticos y de base y los otros: ambientales, fisiológicos y patológicos pueden ser considerados parte de la epigenómica

2.- La alteración patológica final es la pérdida neuronal selectiva ocasionada por una proteína beta amiloide y una proteína tau hiperfosforilada, estas corresponden al nivel

3.- En el nivel genómico resaltan las mutaciones de 3 genes: presenilina 1 (PS1) presenilina 2 (PS2) identificados en EA familiar de herencia autosómica dominante (5% casos) y que codifican para una APP (proteína precursora de amiloide).

También como factor de riesgo está genotipo ApoE4

4.- La Proteína beta amiloide (Ab) que resulta del procesamiento de la APP por un sistema de proteasas alfa o beta y gamma, y que por alteraciones de la secuencia en las regiones de corte de la gamma secretasa la proteína termina siendo cortada solo por la secretasa beta, este procesamiento ocurre en el nivel Post Traduccional

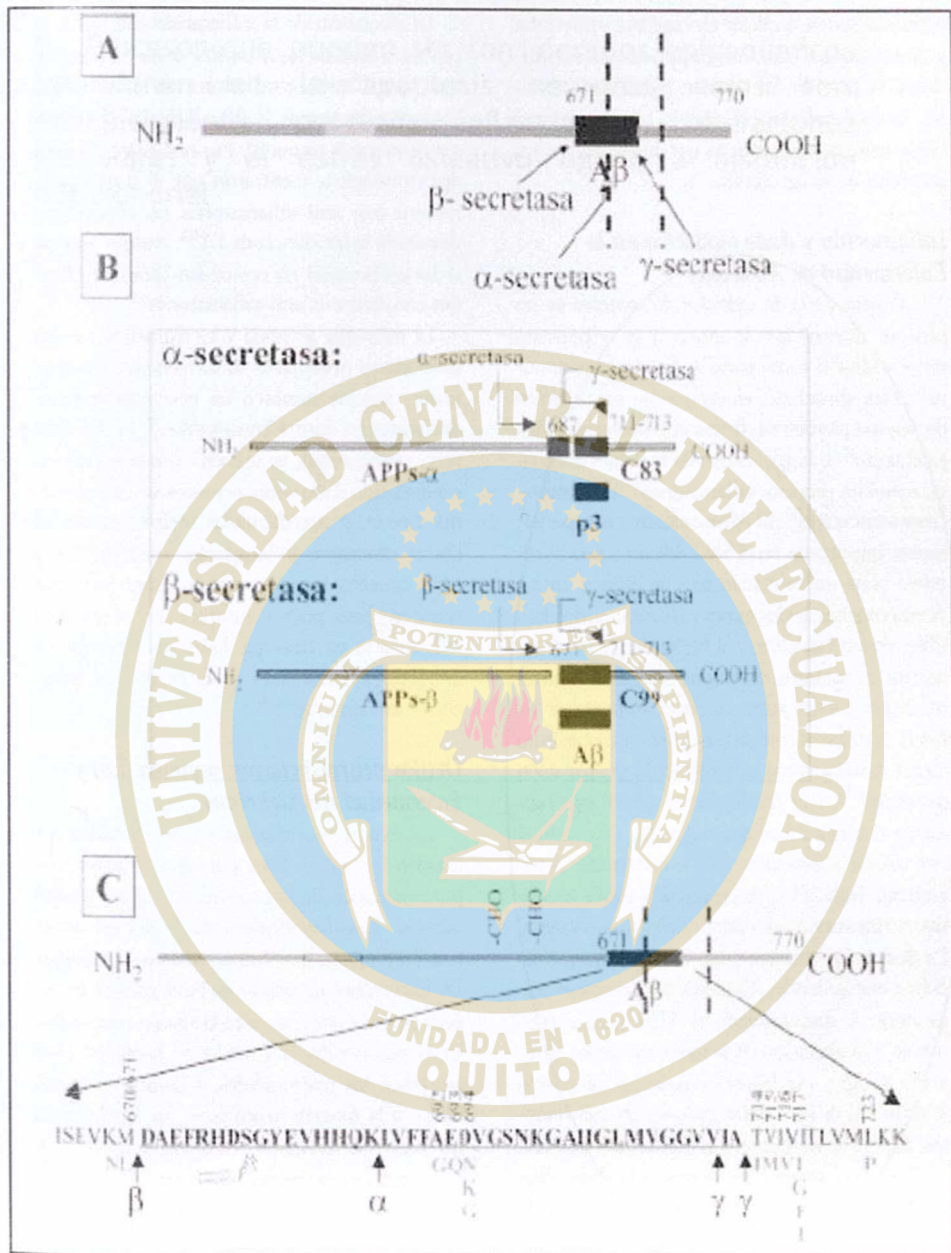


Figura 1. La Proteína Precursora del Amiloide. A. Estructura de la Proteína Precursora del Amiloide (APP). B. Sitios de corte de las secretasas α , β y γ y su relación al dominio transmembrana. Se muestran los fragmentos obtenidos por el procesamiento proteolítico. C. Mutaciones en APP asociadas a la Enfermedad de Alzheimer. Los cambios de los aminoácidos en la cadena polipeptídica se indican con letras grasas bajo la secuencia normal. Se indica en forma numérica su posición en la cadena. La secuencia correspondiente al A β 1-42 está subrayada.

acumulación de amiloide en capilares y arteriolas y afectando los contactos sinápticos interneuronales. El péptido A β también puede unir metales, lo cual induciría el cambio conformacional hacia sabana β -plegada, lo que resultaría en un aumento de su agregación.

Inflamación y daño oxidativo en la Enfermedad de Alzheimer

La generación de radicales de oxígeno es un proceso normal que se asocia a la respiración mitocondrial o como parte de la respuesta inmune⁽⁶⁾. Hay situaciones en las que los mecanismos de defensa pierden su eficiencia, como en el envejecimiento⁽⁷⁾ o la generación de radicales aumenta, como en procesos inflamatorios⁽⁸⁾ o en alteraciones vasculares⁽⁹⁾. El estrés oxidativo es especialmente importante en el SNC debido a que el cerebro tiene un contenido alto de lípidos, incluyendo muchos ácidos grasos poli-insaturados susceptibles de ser oxidados, y al hecho de ser un órgano con un consumo de oxígeno muy alto. El estrés oxidativo parece jugar un papel importante en la EA, aunque aún se discute si es un mecanismo causal o solo estaría envuelto en la propagación del daño^(10,11). El Óxido nítrico (NO), especialmente si está en cantidades grandes, se combina con anión superóxido (O₂⁻), formando peroxinitrito (ONOO⁻), determinando estrés oxidativo y nitrosativo, asociado a daño mitocondrial. La disfunción mitocondrial, con el consiguiente déficit energético (el A β bloquea el complejo respiratorio I, disminuyendo el ATP) podría contribuir a la alteración de la remoción de los agregados de A β y a la disfunción neuronal, afectando la actividad de los canales iónicos y transportadores, la neurotransmisión, y el transporte neuronal.

El estrés oxidativo secundario a la disfunción mitocondrial se observa en etapas tempranas de la EA, y podría depender de daño directo o indirecto por el A β ⁽¹²⁾. Recientemente se ha descrito la interacción del A β con un ligando mitocondrial, la A β -binding alcohol dehydrogenase (ABAD). ABAD está incrementada en las neuronas en los pacientes con EA y funcionalmente se le ha asociado a muerte celular⁽¹³⁾.

La asociación de la inflamación con la EA se planteó a fines de los años 80 y desde entonces se han identificado mediadores de inflamación como interleuquinas, IL-1 β e IL-6, y TNF α (Factor de necrosis tumoral). Por otro lado, estudios epidemiológicos mostraron que el tratamiento crónico con anti-inflamatorios no esteroideos disminuye la incidencia de EA⁽¹⁴⁾, aunque esto no se ha confirmado en protocolos clínicos realizados con distintos anti-inflamatorios⁽¹⁵⁾.

La microglía activada y los astrocitos son los generadores principales de factores pro-inflamatorios, aunque también las neuronas secretan citoquinas en forma constitutiva⁽¹⁶⁾. El A β activaría a la microglía, ya sea activando la fagocitosis e induciendo daño sobre neuronas vecinas en forma directa, o agrediendo indirectamente, al liberar citoquinas inflamatorias, óxido nítrico y otras neurotoxinas capaces de dañar neuronas cercanas. Esto podría autopropagar el proceso inflamatorio en caso que fallen los mecanismos de regulación normales ejercidos por los astrocitos y las neuronas^(17,18).

Ovillos neurofibrilares: proteína Tau y Enfermedad de Alzheimer

Los ovillos neurofibrilares están formados por filamentos helicoidales pareados, compuestos principalmente de la proteína asociada a microtúbulos (Tau) hiperfosforilada de manera anormal. En las neuronas, Tau normalmente estabiliza los microtúbulos, siendo esencial para el transporte axonal y por ende, para la función neuronal⁽¹⁹⁾. La agregación de Tau reduce su habilidad para estabilizar los microtúbulos, y llevaría eventualmente a la muerte neuronal⁽²⁰⁾. Su aparición es un evento relativamente temprano en la EA⁽²¹⁾.

La asociación mecanicista entre las placas seniles y los ovillos neurofibrilares se ha mantenido como una incógnita por muchos años, aunque existía evidencia que el depósito de A β fibrilar inducía la fosforilación de Tau seguida de la neurodegeneración progresiva de los procesos neuronales. Hoy se conoce que A β es capaz de activar a quinasas capaces de fosforilar Tau, tales como GSK3 β y CDK5^(22,23). Se describe además,

5.- Procesos que pueden ser considerados epigenómicos intervienen en la apoptosis neuronal, estos son: envejecimiento, procesos inflamatorios, alteraciones vasculares y el estrés oxidativo ligado a disfunción mitocondrial



una actividad de CDK5 aumentada en varias enfermedades neurodegenerativas, incluida la EA, y también que la inhibición farmacológica de CDK5 atenúa la neurotoxicidad de A β ⁶⁰. Además, la neurotoxicidad inducida por A β se asocia a la activación mantenida de proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK). En conjunto, estos resultados indican que Tau tiene un papel clave en la generación de neuritis distroficas en respuesta al A β . Recientemente, además se mostró que la presencia de Tau es esencial para la neurotoxicidad inducida por A β , de tal manera que, en animales transgénicos sin Tau, las neuronas hipocámpicas no degeneraban cuando eran tratadas con A β , mientras la neurotoxicidad era restaurada al re-expresar Tau⁶⁰.

Envejecimiento y Enfermedad de Alzheimer

La edad es, lejos, el factor de riesgo más importante para la EA. La prevalencia de esta demencia aumenta en forma exponencial en la población de individuos mayores de 75 años (Figura 2). Este

dato no es menor, y deberíamos tenerlo permanentemente en cuenta si queremos entender los procesos biológicos subyacentes a la EA, ya que existe una similitud importante entre la EA y algunas alteraciones asociadas al envejecimiento. Se ha descrito que citoquinas pro inflamatorias como IL-6- y TNF α o sus receptores, aumentan con la edad. Por otro lado, el Estrés Oxidativo es un mecanismo central para el envejecimiento, el que también se evidencia en la EA, por la presencia de productos de oxidación de lípidos, proteínas y ADN^{61,62}. La demencia tipo EA, podría ser, entonces, el resultado terminal de una interacción compleja de riesgo genético, cambios atribuibles a múltiples patologías subyacentes, trauma, injurias ambientales, y cambios hormonales entre muchos otros.

Inmunoterapia: su implicancia para la Enfermedad de Alzheimer

Nuestra comprensión del déficit cognitivo ha sufrido cambios importantes gracias a las observaciones realizadas en los experimentos de inmu-



Figura 2. Cambios del SNC en el Envejecimiento.

6.- Destacan factores epigenómicos relacionados con las injurias ambientales y cambios hormonales en este proceso neurodegenerativo

NOTESE que no se está tratando de establecer los mecanismos patológicos de la enfermedad, sino que se está haciendo un ejercicio de reconocimiento de los mecanismos moleculares implicados en esta enfermedad



noneutralización para A β . Ratones transgénicos que sobre-expresaban APP, sometidos a inmunización pasiva (administración de anticuerpos contra A β) o activa (inducción de respuesta inmune contra A β) disminuyeron la formación de placas de amiloide^[78]. Pero lo más interesante fue que la función cognitiva mejoró en estos animales^[90,11]. Estos resultados tienen enormes proyecciones, tanto terapéuticas como para el entendimiento de la patogénesis de la EA. En consideración al éxito alcanzado en el modelo animal, en el año 2001 se inició un protocolo de inmunización para pacientes con EA leve a moderada. Desgraciadamente, alrededor del 5% de los 375 pacientes inmunizados presentaron signos de inflamación del SNC (encefalitis) y empeoraron respecto a su condición cognitiva basal, razones por las cuales se suspendió el protocolo a comienzos del 2002^[92,20]. En abril del 2003, se publicó el estudio anatomopatológico de una de las pacientes inmunizadas que presentó una encefalitis, muerta 1 año después por una embolia pulmonar^[96]. Su cerebro reveló que las placas de amiloide disminuyeron en regiones extensas de la corteza, en comparación con 7 pacientes clínicamente similares no inmunizados. Muchas de las regiones sin placas contenían gran cantidad de microglías que co-localizaban con la inmunodetección para A β , sugiriendo que la inmunización contra A β promovió la fagocitosis de la microglía.

La mejoría cognitiva experimentada por los ratones transgénicos inmunizados con A β ^[90,11] sugiere que las alteraciones cognitivas no son producto exclusivo de la muerte neuronal, sino que también dependen de procesos potencialmente posibles de revertir, que alterarían la función neuronal, ya sea a nivel de la sinapsis, de la transducción de señales o de la conducción neural. De hecho, la disfunción neuronal y la alteración cognitiva resultante se presenta en grados variables y podrían formar parte de un continuo de disfunciones asociadas a la edad.

La capacidad de aprender información nueva. Por muchos años, la demencia se atribuyó a la muerte celular. Concordante con ello, la transmisión y densidad sináptica en sinapsis colinérgicas están muy disminuidas en estos pacientes. Parte importante de esta disminución corresponde a un déficit colinérgico presináptico, reflejo de la pérdida (muerte) de neuronas colinérgicas^[99]. Sin embargo, la pérdida temprana de la memoria también podría deberse a una falla sináptica causada por oligómeros de A β ^[98]. Se observan alteraciones en el fenómeno de potenciación de larga duración (Long Term Potentiation o LTP en inglés), un paradigma experimental de plasticidad sináptica. Este tipo de alteraciones funcionales en las neuronas, es potencialmente manejable toda vez que las neuronas no han muerto.

Si bien, el mecanismo del daño sináptico es desconocido, investigaciones recientes sugieren que hay evidencias tempranas de daño dendrítico y sináptico, con disminución del número de sinapsis, y que serían los oligómeros de tamaño pequeño (en contraste a las placas grandes), los que podrían producir disfunción neuronal. A pesar que se producen alteraciones en numerosos neurotransmisores al progresar la enfermedad, los síntomas tempranos parecen correlacionarse con la disfunción de sinapsis colinérgicas y glutamatérgicas. Esta disfunción y pérdida de sinapsis ocurriría antes de la formación de placas de amiloide^[97]. De hecho, en animales transgénicos con una expresión aumentada de APP, existe evidencia bioquímica y electrofisiológica de alteraciones sinápticas, incluyendo una disminución del LTP antes de observar agregados de A β , y con efectos dependientes del envejecimiento de los animales^[98]. La inyección de péptidos A β también es capaz de alterar la transmisión sináptica y la memoria de corta duración^[99]. El A β también podría gatillar una liberación excesiva de aminoácidos excitatorios como el glutamato desde las células gliales, los que dañarían a las neuronas cercanas por excitotoxicidad. La activación exagerada de receptores glutamatérgicos del tipo de N-methyl-D-aspartato (NMDA) produce un incremento del calcio intracelular, y resulta en la

activación de la Oxido Nítrico Sintasa neuronal (nNOS), favoreciendo el daño oxidativo.

Recapitulación

En esta revisión hemos comentado varios mecanismos de daño que están presentes en la EA, varios de ellos además serían comunes a diversas patologías neurodegenerativas. Así, la EA probablemente corresponde a un proceso de múltiples etapas que incluye eventos ambientales, epigenéticos y genéticos (Figura 3), lo que concuerda con las evidencias clínico-epidemiológicas

y experimentales^[40]. La contribución relativa en la EA de cada uno de los mecanismos expuestos es probablemente diferente para distintos individuos. La EA parece asociarse a un fenotipo pro-inflamatorio, con aumento de la reactividad glial y de la actividad citotóxica en el SNC. La disminución de la agregación proteica, del estrés oxidativo, el daño mitocondrial, la respuesta inflamatoria y la acumulación de metales pesados, como también el re-establecimiento de la neurotransmisión y bloquear la excitotoxicidad son aproximaciones terapéuticas experimentales hoy día, pero que pueden demostrar ser beneficiosas como tratamiento el día de mañana.

7.-Concluyen identificando los dos principales mecanismos implicados en esta enfermedad: genéticos y epigenéticos

Haciendo un análisis minucioso de los mecanismos moleculares se pueden estructurar los siguientes niveles moleculares, así:

Genómico

Epigenómico

Replicómico

Transcriptómico

Post Transcripcional: Exómico e Intrónico

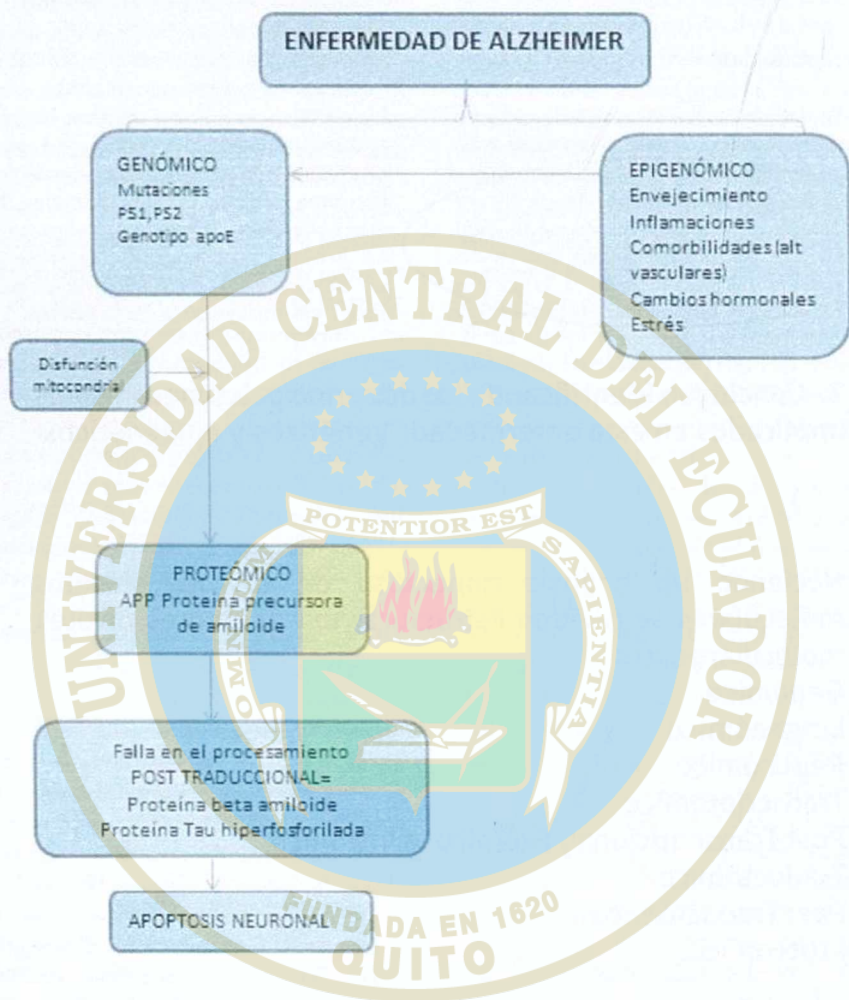
Traductómico

Post Traductómico

Proteómico

Por tanto en este artículo podemos encontrar los siguientes niveles afectados:

Genómico, Epigenómico, Proteómico y Post Traductómico, y el mapa mental quedaría elaborado como sigue:



Mapa mental elaborado por los autores

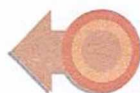
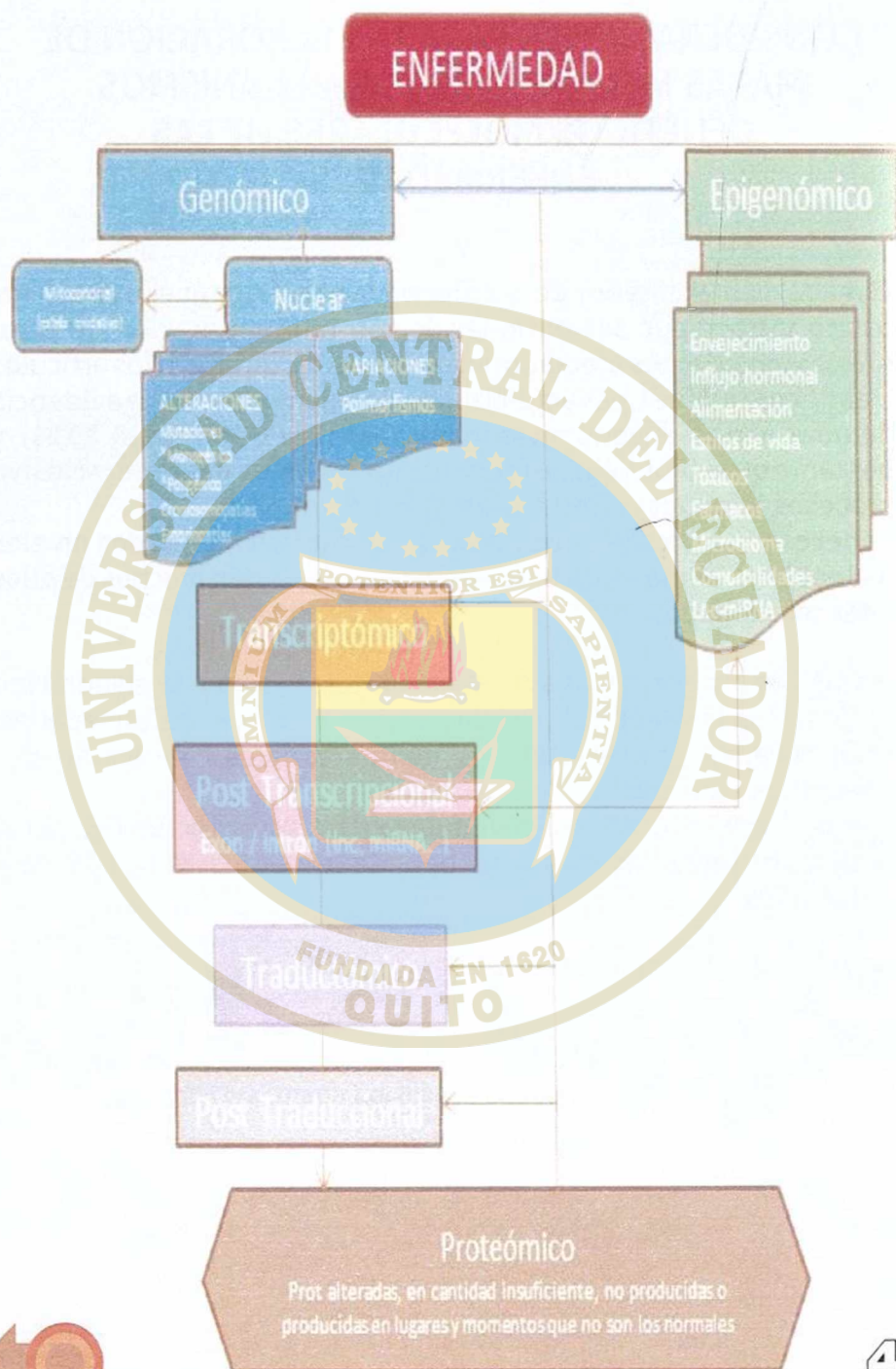
CONSIDERACIONES PARA LA ELABORACIÓN DE MAPAS MENTALES DE LOS MECANISMOS GENÉTICOS MOLECULARES DE LAS ENFERMEDADES

El mapa mental anterior de la enfermedad de Alzheimer es bastante básico y tiene que ser enriquecido con la identificación de otros niveles moleculares afectados mediante la lectura de otros artículos científicos cada vez más actualizados. Por ejemplo se tiene evidencia de otras variantes genómicas implicadas (Paz y Miño et al.2014) y portanto otras proteínas, así como de los lncRNA y miRNA, e inclusive procesos infecciosos (microbioma) e inmunitarios.

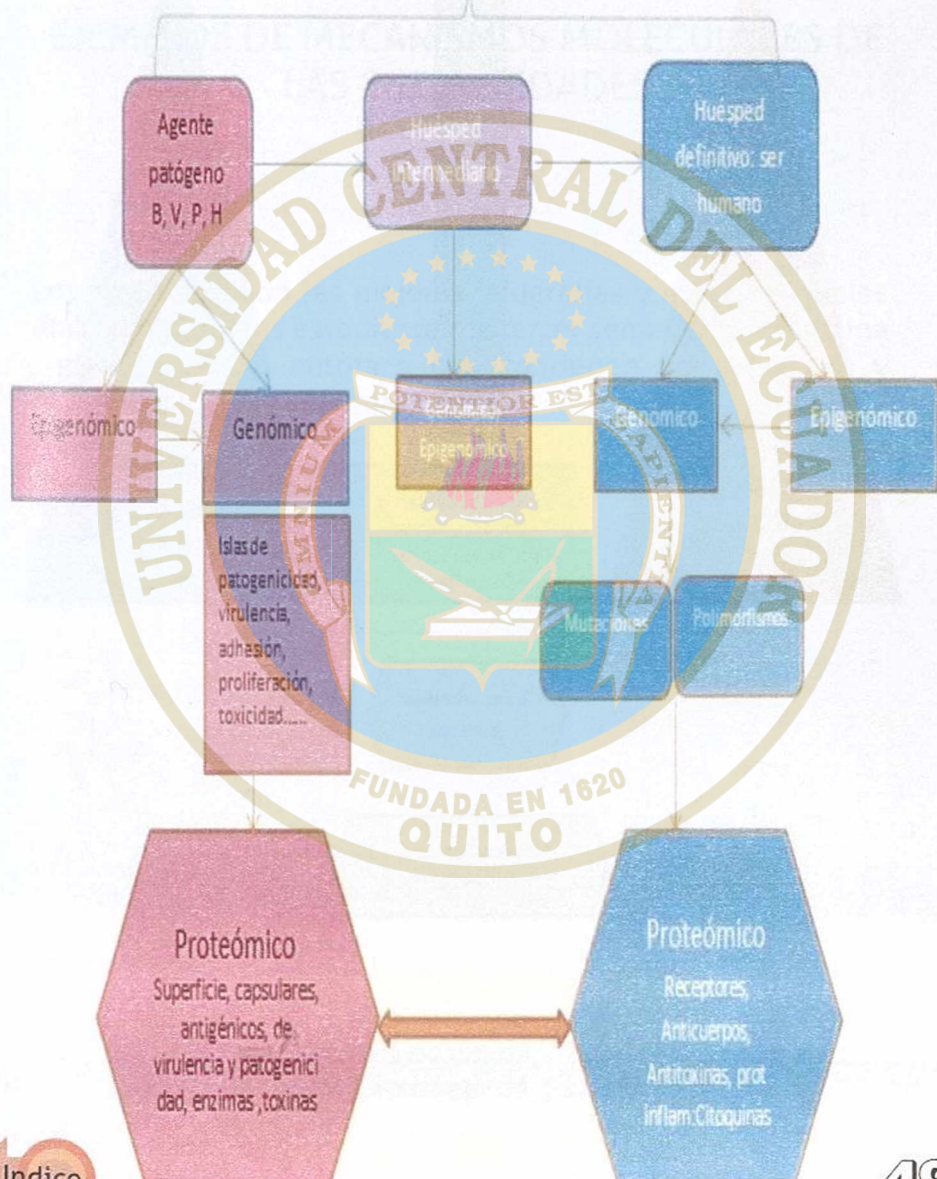
Es necesario indicar que obviamente no estarán implicados niveles moleculares de manera aislada, sino más bien están muchos de ellos inter relacionados.

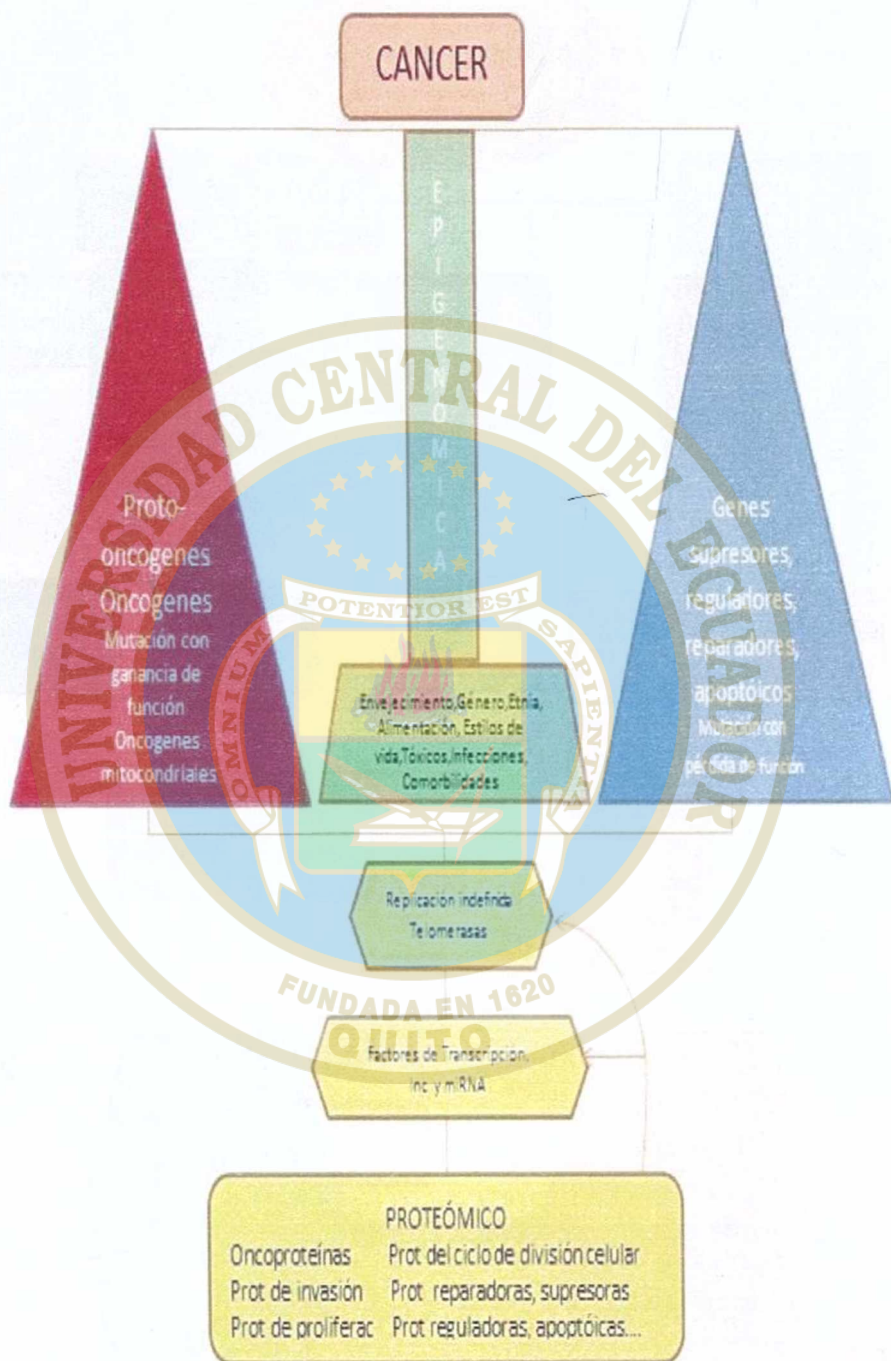
Los siguientes esquemas son recomendaciones para la elaboración de los Mapas Mentales en diferentes tipos de enfermedades: enfermedades poligénicas y multifactoriales, enfermedades infecciosas y cáncer

Esto no significa una camisa de fuerza para su estructuración, si el estudiante logra diseñar otro tipo de esquema didáctico será bienvenido



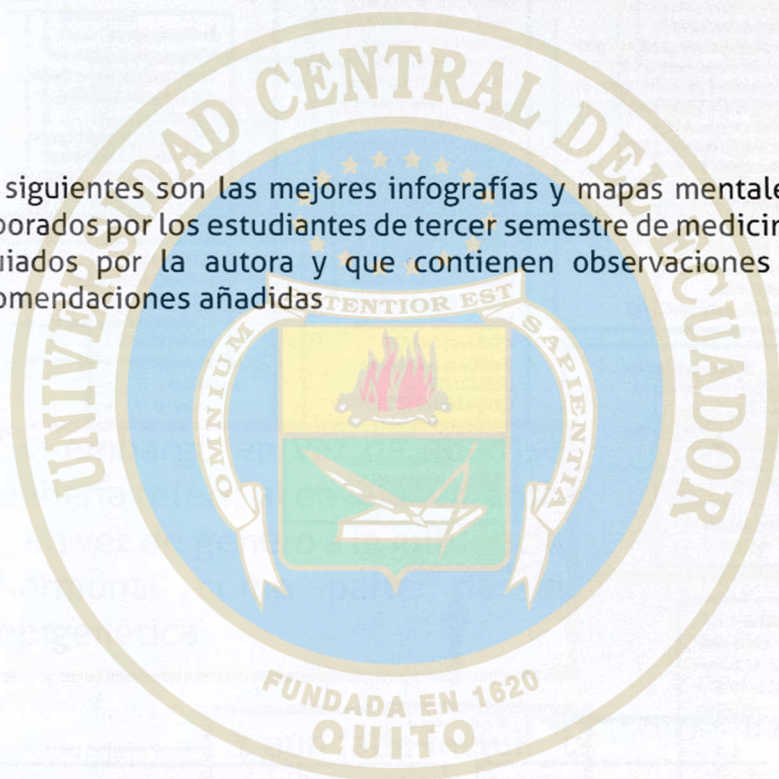
ENFERMEDADES INFECCIOSAS





EJEMPLOS DE MECANISMOS MOLECULARES DE LAS ENFERMEDADES

Los siguientes son las mejores infografías y mapas mentales elaborados por los estudiantes de tercer semestre de medicina, guiados por la autora y que contienen observaciones y recomendaciones añadidas.

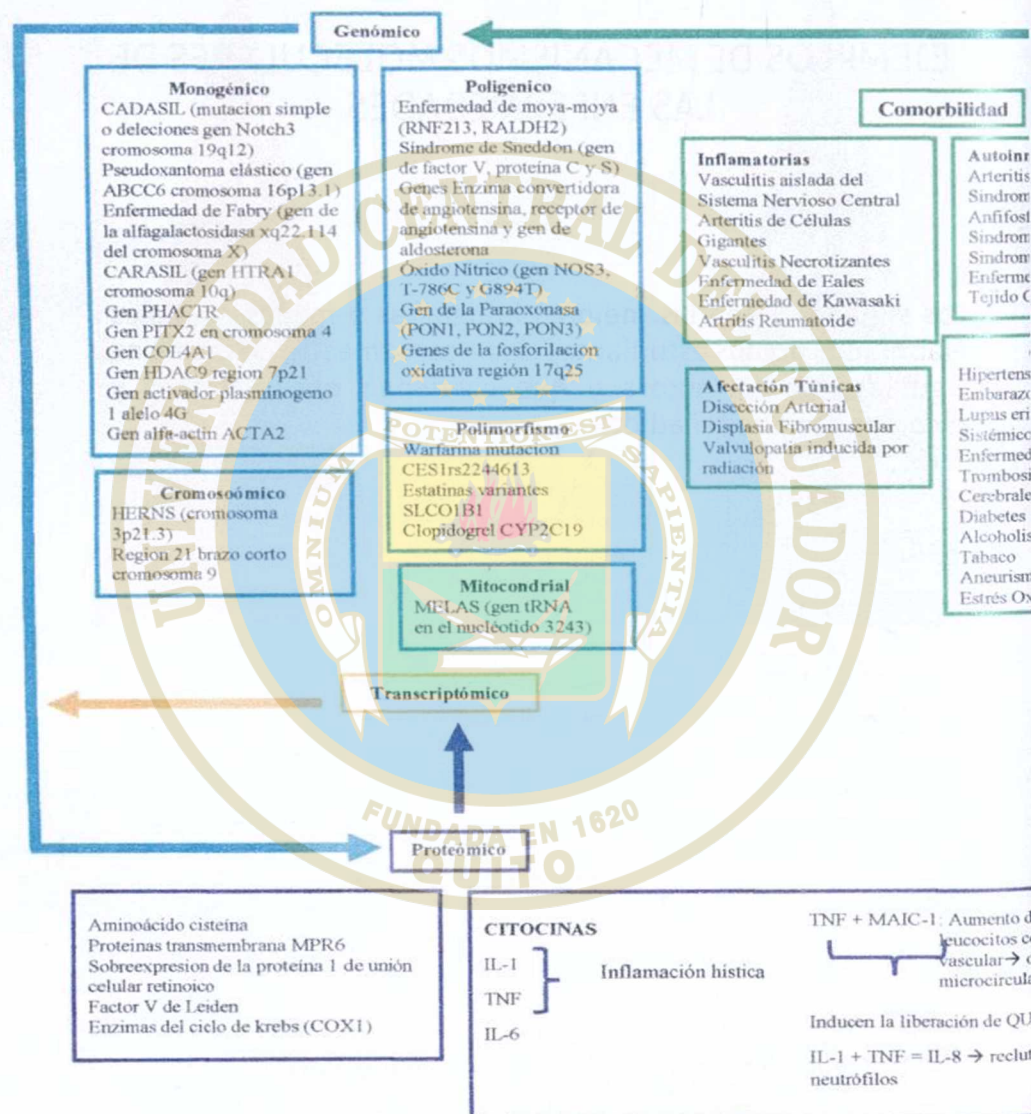


80 y 90 % de los casos son de tipo isquémico (aterotrombótico y/o cardioembólico)
10 al 15 % son de tipo hemorrágico (hemorragia cerebral y/o subaracnoidea),
Mortalidad global del 30 %
Segunda causa de demencia en el mundo

Trombótico

Enfermedades C

Secund
enfer



Mapa mental elaborado por Guevara, P; Heredia, M y Chávez, D. 2015

Índice

52

Cerebrovasculares

Isquémico

En Ecuador un estudio de más de 500 casos
37.4% correspondió a hemorragias
62.6% a eventos isquémicos

Mapa muy completo y descriptivo de todos los mecanismos moleculares comprometidos en esta

diario a otras
medades

Epigenómico

Infecciones

Biomarcadores

ARN no codificante
antisentido (ANRIL) a par
del locus INK4/ARF en la
región 21 del brazo 9

inmunes
is de Takayasu
me
sfolipídico
me de Sjogren
me de Cogan
iedad Mixta del
Conectivo

Bacterias

Gram Negativas

- Espiroquetas (*Treponema pallidum*)
- *Borrelia burgdorferi*
- *Exserchilum rostratum*
- Rickettsiosis

Meningitis Bacteriana
Mycoplasma pneumoniae

Virus

- VIH
- Herpes zoster
- Virus Hepatitis C
- Parvovirus B19
- Virus del Nilo Occidental
- Enterovirus
- Dengue
- Citomegalovirus
- Epstein-Barr

Otros
sión
zo
rtematoso
zo
edad de Behcet
sias Venosas
les
ismo

ma
xidativo

Hongos

- Mohos Filamentosos
- *Aspergillus*
- *Mucor*
- Levaduras
- *Cryptococcus*
- *Coccidioides*
- *Cándida*

Parásitos

- *Taenia solium*

Edad

- 40 años (genéticos)
- Encima 50 años
comorbilidades

Género

- Hombres
- Mujeres
(embarazadas y
puerperio)
- Postmenopausia

Tóxicos

Fármacos

- Ergóticos
- Triptanes
- Simpatomiméticos

Drogas

- Anfetaminas
- Cocaína

miRNA

miR-208a	(+)
miR-423-5p	(+)
miRNA-150	(-)
miR-29a	(+)
miR-142-3p	(-)
miR-1	(+)
miR-296-5p	(+)
miR-126	(-)
miR-134	(+)
miR-149	(+)
miR-31	(+)
miR-92a	(-)
miR-124	(-)

Sin embargo en vez de edad se debería referir al envejecimiento y en vez de género a la influencia hormonal como parte de la epigenética

Y aún falta incluir la participación de los lncRNA como por ej. Gomafu

de interacción de
con el endotelio
ocuyen la
lación

JIMOCINAS

atamiento de

Afectación mundial: 1%
Heredabilidad: 60%
 $h^2=2-17\%$

GENÓMICO

Mitocondrial

son

Nuclear

Estrés Oxidativo

Alteraciones

son

Variación

Mutaciones

son

Cromosomopatías

Polimorfismos

PTPN22

STAT4

Genes que codifican para proteínas

Proinflamatorias

TNF α

CLTA4

TRAF1

FCRL3

PADI4

TNFAIP3

Citobanda 6p21 (Cromosoma 6)

Genes HLA-I

en

Alelos HLA-DR HLA-DQ

Estas variaciones funcionarían como antígenos desencadenantes de la respuesta auto inmune

relacionado con

relacionado con

TRANSCRIPTÓMICO

POSTTRANSCRIPCIONAL

relacionado con

PROTEÓMICO

Interleucina Proinflamatoria 17

dado por

induce

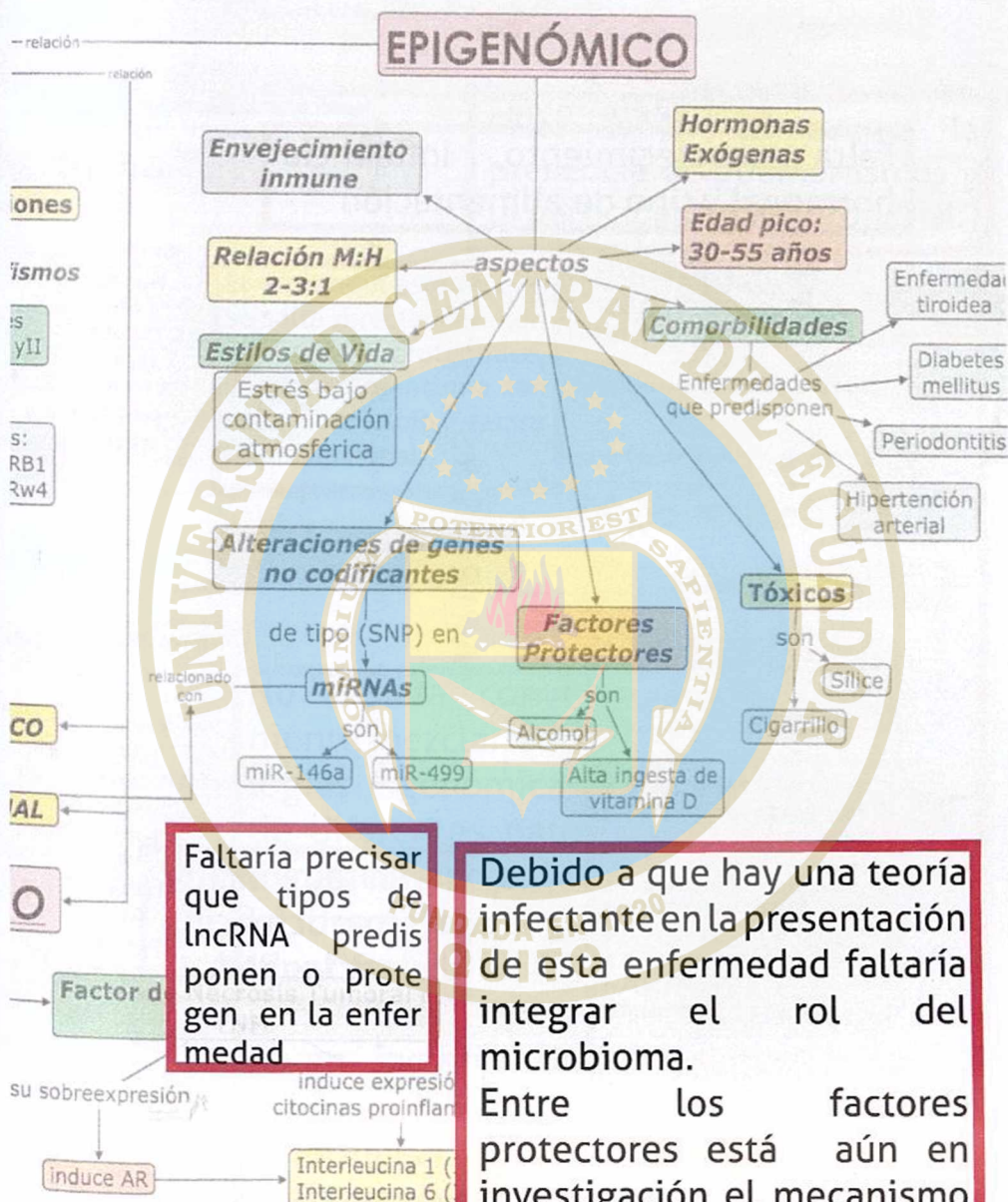
producción de citocinas inflamatorias

daño del tejido sinovial

provoca

acumulación de células inflamatorias

provoca



Enfermedades Isquémicas

Multifactorial 70%

Epigenómica

Falta envejecimiento, influencia hormonal y tipo de alimentación

- Tabaquismo
- Sedentarismo
- Estrés

Comorbilidades

- Diabetes
- Hipertensión
- Obesidad

Infecciones

- Mycoplasma pneumoniae

miRNA (biomarcadores)

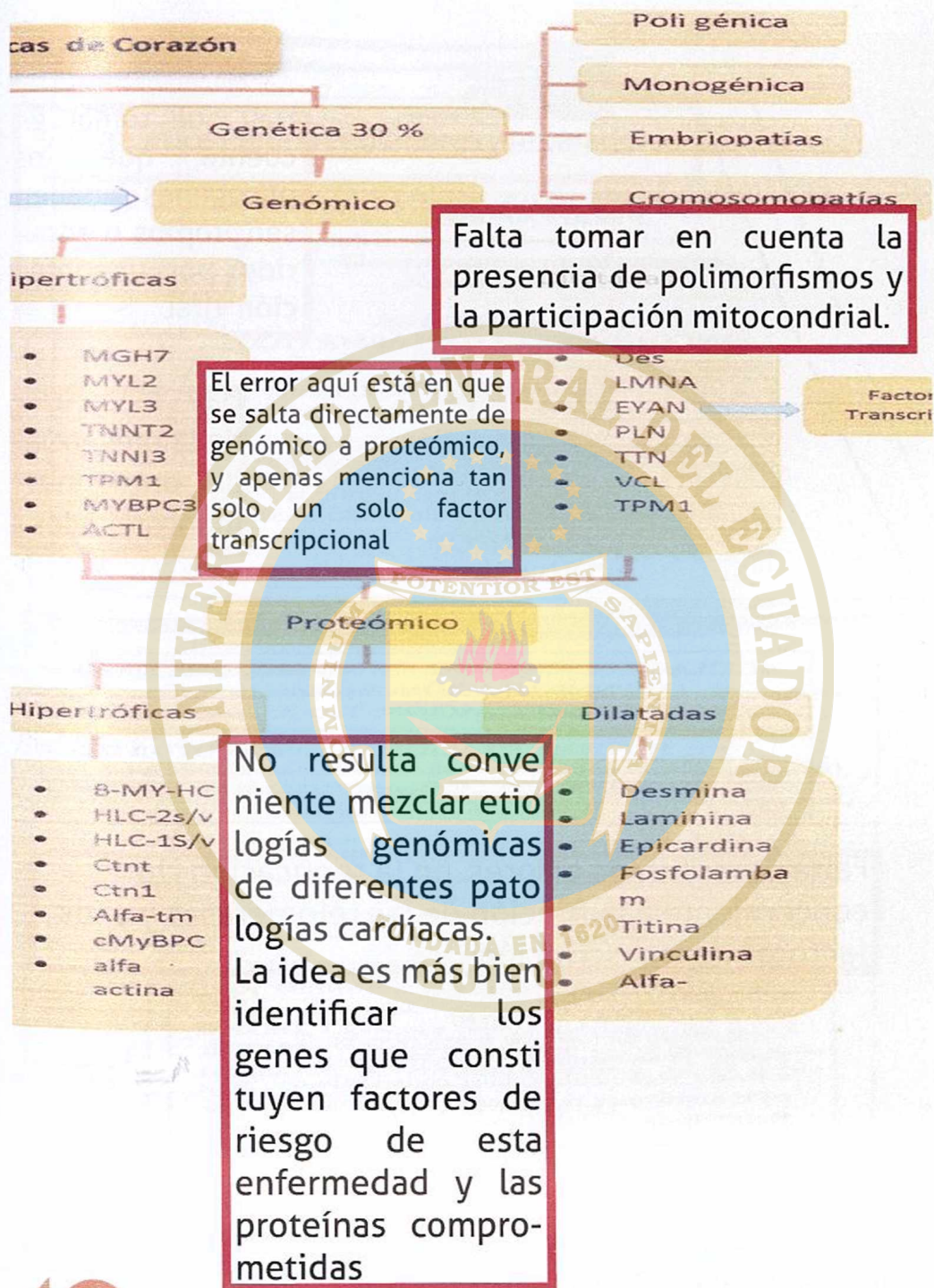
- miRNA11
- miRNA133
- miRNA208a
- miRNA199
- miRNA423
- miRNA21

Y aún falta incluir la participación de los lncRNA

Metilación del ADN

- DNMT1
- DNMT3A
- DNMT3b

Mapa mental elaborado por Jaramillo,B; Lema,M y Vizcarra E. 2015



PROTOONCOGENES

Son genes celulares normales que controlan los procesos de proliferación y diferenciación.

Hay que tomar en cuenta que los oncogenes pueden ser propios o adquiridos por una infección viral

ONCOGENES
ONCOGENES CITOPLASMÁTICOS

- Erb-b2 (HER-2/neu)
- k-sam III
- Ras

ONCOGENES NUCLEARES

Ejercen su acción modulando la transcripción del ADN o alterando el ciclo celular o:

C-myc

Hay evidencia de la presencia de oncogenes mitocondriales

METILACIÓN: Grupo metilo más base nitrogenada, citosina. Mod

- **HIPOMETILACIÓN:** Activación de oncogenes y pérdida
- **HIPERMETILACIÓN:** Tipo A, presente en tejidos ne
- **HIPERMETILACIÓN DEL PROMOTOR DEL GE**

HISTONAS: Altera la forma fosforilada y acetilada de la histona H3

ARN NO CODIFICANTE: Causan silenciamiento génico mediante miR-145, miR-99a, miR-26a, miR-203, miR-513, miR-29a y miR-199a

Falta describir los errores en la replicación, lo concerniente a la función de las telomerasas y a los factores de transcripción

ONCOGÉNICAS:

v-rel: leucemias y linfomas.

v-sis Altera factores de transcripción.

v-maf: Transformación de retrovirus

v-fms: Crecimiento celular constitutivo.

p55: Retrovirus, replicación defectuosa.

Retroviridae: Transforman células.

p65: deriva del virus del sarcoma aviario.

PROTE

Faltarían los genes reguladores y reparadores

GENES SUPRESORES DE TUMORES

Genes para proteínas en el citoplasma

APC, DPC4, NF-1, NF-2

Genes para proteínas en el núcleo

MTS1, RB, p53, WT1

Genes para proteínas cuya localización celular no está clara aún

BRCA1, BRCA2, VHL, p53

Moduladores

MDR, ARF

modifica histonas, forma ARN no codificante.

la de la impronta genómica.

ormales, con la edad afecta genes que intervienen en el ciclo celular.

ores de tumores

N: Inactivación o mutación de ambos alelos, silenciamiento de genes.

e el ARN de interferencia, altera la expresión de los miRNA (miR-143,

). Aberraciones en el imprinting o deleciones en el 58% del cáncer.

Histonas: acetilación, fosforilación, metilación, deaminación, ubiquitinización.

Los largos no codificantes (**lncRNA**): supresión tumoral y oncogénica.

SUPRESORAS

p53, Detiene la división celular, apoptosis de células afectadas.

BRCA1, Detecta y repara los daños del ADN.

BRCA2, Repara daños cromosómicos, reparación de errores de cortes en la doble hebra de ADN.

RB, inhibe ciclo celular fase G1.

p16, regula el ciclo celular.

APC supresión de tumores.

DPC4 inhibe la división celular.

Está fuera de lugar la conexión entre mutaciones y los niveles replicómico, transcriptómico y traductómico, en los que además no se especifican los factores comprometidos

GENETICA



Mapa mental elaborado por Mosquera, A; Montenegro, X; Jaramillo, V. 2016

Índice

60

HIPERTENSION ARTERIAL

EPIGENETICO

Propios Individuos

- ✚ Género
- ✚ Envejecimiento
- ✚ Raza: Afrodescendientes

Dependientes del Medio

- Alimentación Hipercalórica
- Estrés psíquico
- Estilo de vida
- Tabaco
- Alcohol
- Sensibilidad a la sal

Falta dieta hipersódica

COMORBILIDADES

- ✚ Hipertensión glucocorticoide.
- ✚ Exceso de mineral y glucocorticoides.
- ✚ Pseudohermafroditismo Masc-Fem.
- ✚ Hipertensión debida a feocromocitoma.
- ✚ Cardiopatías - Arteriosclerosis.
- ✚ Síndrome de Liddle - Gordon y Síndrome Metabólico.
- ✚ Hiperlipidemia.
- ✚ Hipercolesterolemia.
- ✚ Obesidad.

- TÓXICOS
- INFECCIONES
- MEDICAMENTOS

Mitocondrial

Mutación a nivel de los genes mitocondriales:

(m.4263A>G) en MT-T1: Codifica para el ARNt de isoleucina.

CYP2D [MIM 124030] en banda q11 del cromosoma 22: Codifica para el producto de la fracción microsomal p450 implicado en el metabolismo de brisquinina y propranolol.

[MIM 540000]: Miocardiopatía hipertrofica y dilatada

miRNA

- miR-1 y miR-13 (Favorecen HTA)
- miR15b, y familia miR17-92 (miR17 y miR106a). (protegen)
- miR125a-5p (protegen)
- miR126 (protegen)

Inc

Relacionados en patogénesis de la enfermedad, cardiovasculares sin embargo, sus papeles funcionales no siempre son bien conocidos. Se han descubierto un nuevo ARN no codificante larga (lncRNA) que promueve la remodelación cardiaca y la hipertrofia, que un día podría ser dirigida con productos terapéuticos para el tratamiento de las

Falta el lugar geográfico

DIABETES MELLITUS

Resistencia a la insulina

NIVEL GENÓMICO

POLIGÉNICO		MONOGENICO	POLIMORFISMO
GENES	FUNCION	MODY	
HNF-4 α	Afecta la síntesis de triglicéridos y las apolipoproteínas.		Gly972: riesgo de desarrollo
HNF-1 α	Disminución de la absorción renal de la glucosa.		Trp64Ar: Relacion
HNF-1 β	Actúan en el páncreas regulando la secreción de insulina.		la obesidad visceral
NEURO-D 1 β			Gln 27Gln
GKF	Alteración de la glucosinasa.		Relacion la obesidad
IPF-1	Regula los genes GKC y los GLUT 2, bloquea los genes de insulina.		Gen de la adipone
AKT2	Produce una hipoglicemia.		Riesgo de
KCJMN11	Produce una secreción anómala de la insulina.		
CAPN 10	Gen común de la diabetes		
GCK	Implicado en los genes de la familia de la insulina bloquea la Glucocinasa, y por ende transferencia de Glucosa a Glucosa 6-p.		
PPARGC1-A	Codifica las proteínas GLUT		

Esta es solo una síntesis de los genes relacionados con esta enfermedad, puesto que ya ha sido identificado todo un mapa genómico más extenso

NIVEL TRANSCRIPTÓMICO

HNF-1 α y HNF-4 α : intervienen con la función relacionada con las células productoras de insulina

NIVEL PROTEÓMICO

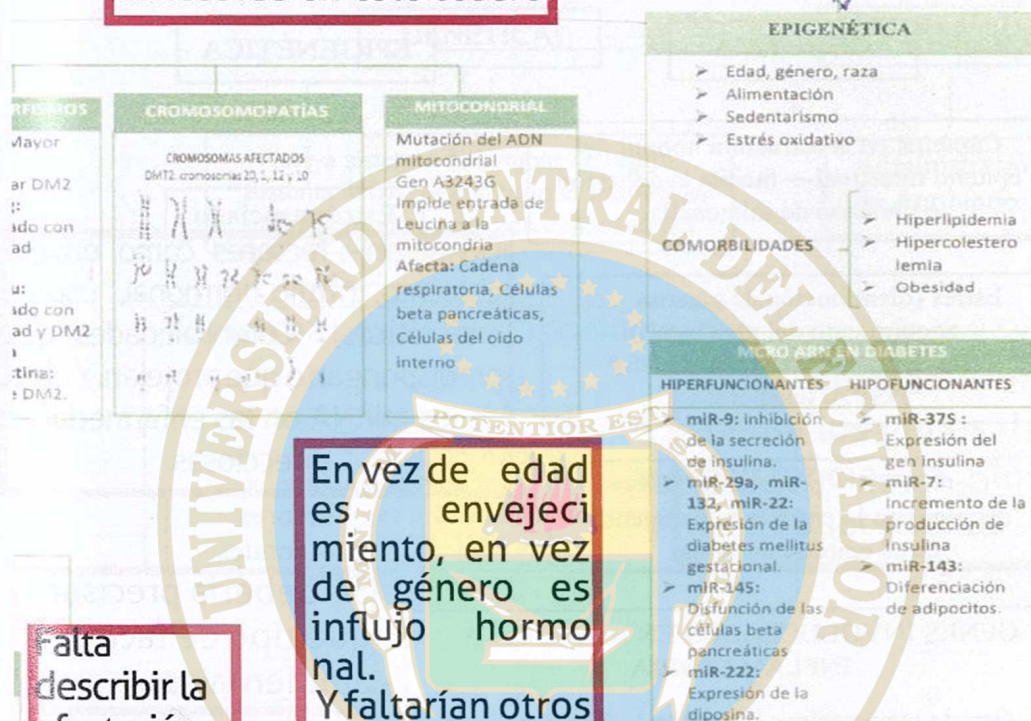
RELACIONADAS CON LA OBESIDAD	RELACIONADAS CON LA GLUCOSA	RELACIONADAS CON LA INSULINA
FTO: Obesidad.	IPF-1: Regula GLUT2	IPF-1: Receptor de insulina
PPAR γ 2: Receptor proteico de la vía de ácidos grasos.	ADIP: Regula el metabolismo de la glucosa	PPAR: Relacionado con la sensibilidad a la insulina.
ADIP: Regula el metabolismo de los lípidos		
UCP3: Participa en el metabolismo de los lípidos		
FNT- alfa: Junto con la interleucina 6 intervienen en los derivados de citosinas del tejido adiposo.		

FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN

HNF-1 α y HNF-4 α : intervienen con la función relacionada con las células productoras de insulina

Mapa mental elaborado por Guasgua,S; López,V y Martínez, A. 2015

La definición de cromosopatías está mal concebida en este cuadro



En vez de edad es envejecimiento, en vez de género es influjo hormonal. Y faltarían otros parámetros como lugar geográfico, de residencia, fármacos, tóxicos, microbioma, y la acción de los lncRNA

Falta describir la afectación post traduccional

HUÉSPED

GENÉTICA

EPIGENÉTICA

Cambios en la estructura normal del epitelio intestinal → facilita la adhesión e invasión de salmonella.

Estrés (disminución de glucosa y el agotamiento del glucógeno) → aumento en los niveles de HSP – HSP70 (chaperona)

Gen CFTR + proteína DF508 → disminuyen la entrada de patógenos en el epitelio intestinal.

Estrés asociado

Olvidaron factores como envejecimiento, influjo hormonal, uso de antibióticos, Comorbilidades que predispongan o que protejan. Y el rol de los miRNA en las enfermedades infecciosas

Factores ambientales

Se debería precisar que tipo de factores ambientales

GENES INVOLUCRADOS EN RESPUESTA INFLAMATORIA

- Gen de las proteínas Rho (RhoA, Cdc42 y Rac)
 - Gen ACTB y ACTG-1
 - Gen de IL-8, IL-4

PRO1

RESPUESTA INFLAMATORIA

- Tracto gastrointestinal (pH alcalino, baja pO₂)
- Proteínas Rho (RhoA, Cdc42 y Rac)
- Actina → Cambio citoesqueleto forman pliegues
- GTPasa Cdc42 → vía MAPK → AP-1 y NF- κ B → IL
- Macrófagos → IL-8 e IL-4 (atraen PMN)
- GTPasa RhoA → romper uniones estrechas de enteroc
- Disminuyen la respuesta inflamatoria del hospedador

Mapa mental elaborado por Mayo, A; Molina, L y Tipán. 2016

NELOSIS

SALMONELLA THYPI

GENÉTICA

EPIGENÉTICA

Activa sistemas de bombas de eflujo:
"Sistema MDR" → bombean el líquido del
citoplasma al exterior con el antibiótico

Administración
de Antibióticos

GENES DE LA ISLA DE PATOGENICIDAD 1

- sirA - hilA
- InvH - InvG - InvB - InvC - InvA
- spaP, Q, R, spaS
- prgH (reprimido por el gen phoP)
- orgA (gen regulado por oxígeno)

Faltó tomar en
cuenta los genes de
resistencia a los
antibacterianos

TEÓMICA

MECANISMO DE INVASIÓN

- sirA → hilA → SPI-1 (codifica y ensambla SSTIII → inyecta efectores)
- SopE, SopE2 y SopB (activar GTPasa Rho)
- Sip A y Sip C (internalización)
- SopE, E2 y B → estimula GTPasa CDC42
- SipB → activa Caspasa-1
- SopE, E2 y B → estimula GTPasa RhoA
- SptP, SspH1 y AvrA → apaga vía MAPK, inhibe activación NF- κ B

-8, IL-4

itos

SOLUCIÓN DE LOS NIVELES MOLECULARES COMPROMETIDOS EN LAS NOTICIAS MÉDICAS

- 1.-Proteómico, epigenómico, genómico, post traductómico
- 2.- Proteómico, genómico, transcriptómico
- 3.- Genómica, epigenómica
- 4.- Proteómico, transcriptómico, genómico
- 5.-Genómico



IMPORTANCIA DE LA IDENTIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS MOLECULARES DE LAS ENFERMEDADES

Como es lógico suponer el reconocimiento de los mecanismos moleculares afectados en las enfermedades permite el diagnóstico rápido y mejor aún la predicción del desarrollo de enfermedades con muchos años de antelación, y así diseñar estrategias de intervención para su prevención y tratamiento.

DIAGNÓSTICO Y PREDICCIÓN.- En este caso se refiere a la identificación de **BIOMARCADORES** que son moléculas que pueden ser medidas y evaluadas objetivamente en el laboratorio, y funcionan como un indicador de un proceso fisiológico, patológico, de respuesta a un tratamiento y de pronóstico.

Ejemplos de biomarcadores que están revolucionando la medicina son los **miRNA** y los **mapas genómicos** que se los puede identificar con técnicas de laboratorio de biología molecular como se indicó en el primer libro de esta serie

ESTIMACIÓN DE RIESGO.- En el caso de pacientes con sospecha de enfermedad los biomarcadores pueden servir para tamizaje y confirmación diagnóstica, sin embargo en pacientes sanos se pueden identificar biomarcadores genómicos, lo que significa solamente una probabilidad de presentar una u otra enfermedad en el futuro.

ESTRATEGIAS DE INTERVENCIÓN.- Entre este tipo de estrategias están por ej las vacunas recombinantes, técnicas de edición genómica, manipulación epigenómica y la ingeniería de tejidos. Sin olvidar la reciente introducción de la medicina de precisión especialmente en Cáncer.

USO DE ADN RECOMBINANTE, CÉLULAS MADRE, EDICIÓN GENÓMICA Y EPIGENÓMICA EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES HUMANAS

Objetivos de intervención

- 1.- El gen o genes afectados con técnicas de edición genómica, pero que aún en el caso de las enfermedades monogénicas no se ha logrado, por la variabilidad de la mutación del gen. ej en Fibrosis quística se han identificado 1900 variantes
- 2.- Los productos del gen afectado que son las proteínas que pueden estar: no producidas, en cantidad insuficiente, alteradas disfuncionales, o producidas en lugares y momentos no adecuados. Los tratamientos entonces por ej serán reemplazar la proteína faltante con otra de origen químico o mejor recombinante

En el segundo libro de esta serie se explica con detalle el proceso de construcción de un producto recombinante, aquí solamente se mencionará los tipos de productos recombinantes que deberán ser identificados en las revisiones bibliográficas de las enfermedades escogidas.

ADN RECOMBINANTE

1.- Productos (proteínas) recombinantes:

- * Citoquinas recombinantes
- * Antígenos recombinantes
- * Vacunas recombinantes
- * Anticuerpos recombinantes
- * Hormonas recombinantes
- * Fármacos recombinantes

2.- Transgénicos/OMG/OGM (Organismos Modificados Genéticamente) tanto vegetales como animales

- * Tipos de animales transgénicos irreversibles:
 - KO Knock Out, (eliminación del gen)
 - KI Knock In, (adición/reemplazo del gen)
 - KD Knock Down (miRNA que anula el gen)
 - * Reversibles con el sistema de switch genético regulado por Tetraciclina: Tet on y Tet off
- Usos: Modelos de enfermedades humanas, producción de Biofármacos, Mejorar la producción animal y Xenotransplantes

TÉCNICAS DE EDICIÓN GENÓMICA

La estrategia de comprensión de estas técnicas es la lectura sistemática de artículos de investigación científica relacionados con este tema y partir de los cuales se solicita identificar estos siete parámetros:

1.- Tipo de edición: in vivo/ex vivo; Somática/Germinal

2.- Diana molecular:

*ADN / Genes: eliminar, inactivar, insertar, sobreexpresar

*mRNA, no codificantes ncRNA: miRNA, lncRNA

3.- Dirigidas por:

* Proteínas: ZNF (Zinc Finger Nucleasas), TALEN (Transcriptor activador like efector), CreLoxp (Recombinasa sitio específica)

* RNA: Ribozimas, OAS (oligonucleótidos antisentido), Antagomir, CRISPR

* DNA: Recombinación homóloga

4.- Uso de vectores

5.- Organo/célula a tratar

6.- Vía de administración

7.- Resultados a corto, mediano y largo plazo

MEDICINA REGENERATIVA o TERAPIA CELULAR o DE CÉLULAS MADRE o INGENIERÍA DE TEJIDOS

La estrategia de comprensión de estas técnicas es la lectura sistemática de artículos de investigación científica relacionados con este tema y partir de los cuales se solicita identificar estos tres parámetros:

1.- Tipo de Stem Cell (SC)

- *SC embrionarias
- * Mesenquimales de diferentes tipos de tejidos, ej: MO, SP, cordón umbilical, placenta, tej adiposo, pulpa dentaria, etc
- * Pluripotentes inducidas (iPSC)

2.- SC obtenidas a partir de:

- * Embriones de Fertilización in vitro (FIV)
- * Transferencia nuclear
- * Partenogénesis
- * Reprogramación de una célula somática adulta sometida a un coctel de reprogramación para obtener iPSC y a su vez someterla a un coctel de diferenciación y obtener una célula diferenciada de otro tipo

3.- Resultados a corto, mediano y largo plazo

OTRAS TÉCNICAS

Es necesario indicar que existen otras técnicas a tomarse en cuenta y para las cuales también se usará la lectura sistemática de artículos relacionados con el tema pero enfocado a la técnica y los resultados obtenidos.

- *Transdiferenciación directa o Conversión directa de una célula adulta de un tipo a otra célula adulta de otro tipo diferente. 1er ensayo de transdiferenciación: Piel a Neurona
- *Bioimpresoras con células somáticas o con SC
- *Tejidos artificiales
- *Nanotecnología biológica



TECNICAS DE MANIPULACION EPIGENÓMICA CON EPIFÁRMACOS

Son moléculas que regulan o modulan los mecanismos epigenómicos y por tanto lo hacen sobre la expresión génica.

Algunos aún en ensayos in vitro * y en fase preclínica y otros ya están en uso con un mecanismo de acción conocido, pero con un mecanismo epigenómico recién descubierto.

Son reguladores de la estructura de la cromatina al intervenir sobre las enzimas que metilan al ADN o las que metilan y acetilan a las histonas

A continuación se detalla los tipos de epidrogas con un ej de cada uno

EN EL ADN

1.- Inhibidores de las Metil transferasas de ADN (DNMTi)

1.1.- Análogos de nucleósidos: Decitabina

1.2- Pequeñas moléculas: Hidralazina y procainamida

1.3.-Moléculas naturales: Polifenoles como el te verde

1.4.-OAS como inhibidor del mRNA de la DNMT

1.5.-miRNA miméticos y antagomirs

EN LAS HISTONAS

2.-Inhibidores de las histonas desacetilasas (HDACi):

2.1.- Ácidos grasos de cadena corta: ácido valproico

2.2.- Ácidos hidroxámicos: Vorinostat

2.3.-Benzamidas: Entinostat

2.4.-Tetrapéptidos cíclicos: Romidepsin

3.- Desacetilasas de histonas: Sirtuinas

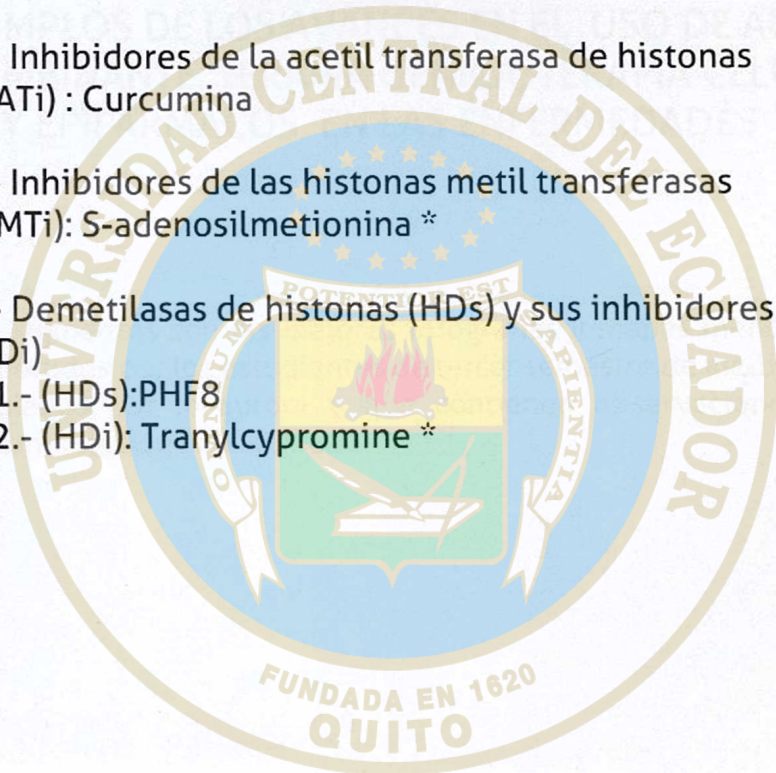
4.- Inhibidores de la acetil transferasa de histonas (HATi) : Curcumina

5.- Inhibidores de las histonas metil transferasas (HMTi): S-adenosilmetionina *

6.- Demetilasas de histonas (HDs) y sus inhibidores (HDi)

6.1.- (HDs):PHF8

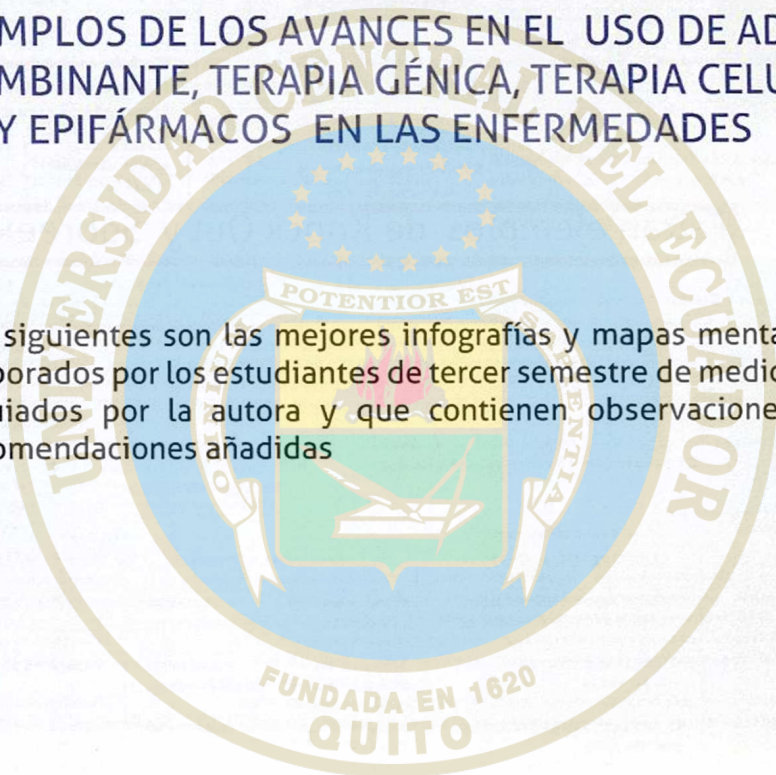
6.2.- (HDi): Tranilcypromine *





EJEMPLOS DE LOS AVANCES EN EL USO DE ADN RECOMBINANTE, TERAPIA GÉNICA, TERAPIA CELULAR Y EPIFÁRMACOS EN LAS ENFERMEDADES

Los siguientes son las mejores infografías y mapas mentales elaborados por los estudiantes de tercer semestre de medicina , guiados por la autora y que contienen observaciones y recomendaciones añadidas



ADN Recombinante

Proteínas

Citoquinas: Aldesl
granulocitos/mono

Vacunas

Tratamiento:
Vacuna Autólogo
 células APC cultivadas
 CSF. **Vacuna co**
gástrico.
Vacuna Alógena

Anticuerpos
y fármacos

Med	Rituximab
T	quimérico
B	CD20

Hormonas

Eritropoyetina EPO
 Producida a parti
 insuficiencia renal c

Animales
transgénico
knock in

Gen a cambiar	Célula	C
Trp53	ES-	T

Faltan ejemplos de Knock Out y Sobreexpresión

Stem cells

Stem cells-Cancer



Células ma
 sangre per
 Se realiza al
 antes de la
 extracción,
 retira y con
 hasta la ins
 en el donan

Nuevas célu
 sanguíneas
 rápido que l
 medula óse

Terapia génica	Tipo de célula (cancerígena)	Gen o genes	Ve
Compensación de mutaciones	Próstata, cuello uterino y pulmón	p53	Ad
Compensación suicida	Vejiga, colon, gástrico, pulmón, glioma	HSV-tk	Ad RB
Inmunopotenciadora	Expresa antígenos tumoriales específicos	Citocina, IL 2, 12 o interferón	Ad CM IL-
Antiangiogénesis	C. endoteliales, musculares lisas, conitivas	Citocina, IL 2, 12 o interferón	Ad CM

Olvidan la posibilidad Transdiferenciación Directa de una célula de Ca - SANA!!!

Tpa.

Epigenética

Tipo	Enzima usada	Tipos de cáncer q tratado
Inhibidores de la metilación de ADN (in vivo) EPIDROGAS	-DMTs -Histonas- desacetilasa	hipermetilación anor promotora de genes el mantenimiento y r ciclo celular.

Faltan más blancos terapéuticos epigenéticos

Cáncer

Interleucina, interleucina-2, factores estimulantes de colonias de eritrocitos y la eritropoyetina, interferón

Vacuna (sipuleucel-T):
basada con PAP-GM-2
contra el cáncer

Profilácticas: Vacuna contra el papiloma humano.

Gardasil: Serotipos 16, 18, 11, 6 de VPH. ADNr *Sacharomyces cerevisiae*

Cervarix: Serotipos 16, 18 de VPH. ADNr *Trichoplusia ni*

H.pilory (Helivax), serotipo B. *E coli*

Ibritumomab murino	Alemtuzumab humanizado	Gemtuzumab humanizado	Trastuzumab humanizado
CD20	CD52	CD33	HER-20

Leucemia

de células de ovario de hamster chino. Tratamiento: crónica. Tiempo de retención: 3.2 minutos.

Gen Sustituto	Vector	Procedimiento	Resultados
Trp53KI / KI	retrovirus pLXSP3-V12 Ras	PCR, electroforación, cultivo	Sin 4-hidroxitamoxifeno, ratones Trp53KI / KI desarrollados diversas formas de tumores

Indicador	Células inmunes adultas	Células de la piel
Indicador de eficacia	Las células inmunes adultas obtenidas de la sangre son modificadas para convertirse en células asesinas específicas para el melanoma.	Cultivar células de la piel, se las reprograma para obtener la iPS, una nueva reprogramación cultivaran las NK seleccionando las más agresivas para inocularlos al receptor.
Indicador de eficacia	Están redirigidos para atacar el cáncer; no tienen la capacidad de auto-renovación.	Ataca a los tumores por medio del sistema inmunitario.

Indicador	Vía de administración	Resultados
Trp53	Inyección intratumoral	Regresión tumoral con toxicidad. Combinado con quimioterapia, ayuda a la apoptosis de las células cancerígenas
Trp110	Inyección intratumoral	Combinado con quimioterapia duplica la respuesta, y no hay progresiones a los 6 meses
TrpAV-12	Inyección intratumoral	Potencia al sistema inmunológico para que reconozca y rechace los antígenos tumorales
TrpAV-12	Inyección intratumoral, oral	Induce mayor inmunidad antitumoral y genera menor toxicidad, reduce los efectos secundarios.
Trpntivi	Inyección intratumoral	Reduce el crecimiento inicial y la colonización metastásica. Protección a largo plazo sin efectos secundarios.

Indicador	Resultado
Indicador de eficacia	Aumento de la expresión de genes supresores lo que da una reducción del tumor
Indicador de eficacia	En los ratones desarrollan tumores intestinales benignos con una rara ocurrencia de cánceres

Inc. miRNA y mitocondriales

Índice

ADN RECOMBINANTE

Insulina Recombinante

- Inicialmente se utilizaba insulina obtenida de cerdos o vacas $\rightarrow$ reacciones alérgicas
- Con el desarrollo de la Ingeniería genética se logró la producción de insulina recombinante.
- Actualmente existen varios tipos de insulina recombinante, cuya diferencia radica en el tiempo de acción.

Procedimiento

- Aislamiento del gen que expresa la insulina.
- Inserción del gen mediante vector plasmídico (pBR322).
- Las bacterias receptoras del plásmido van a ser *E. coli* o *S. cerevisiae*.
- Las bacterias producen las cadenas A y B de forma separada.
- La purificación, plegamiento y unión se realiza *in vitro*.

Transgénicos

Experimentación

- **Modelos Espontáneos Intrínsecos**
Ratones *db/db*, *ob/ob*, Agouti, Zucker (*fa/fa*)
- **Análogos**
Ratones GK, NZO, KK, OLETF
- **Modelos Inducidos**
Inducción hormonal
Administración de fármacos
- **Manipulación genética**
Sobreexpresión: Ratones Transgénicos
Eliminación: Ratones "Knock-out"
Reemplazo: Ratones "Knock-in"

Tratamiento

- **Animales**
Se han creado vacas que producen leche con insulina, mediante la inserción de el gen de la insulina en un embrión. Este leche es purificada y refinada para extraer la insulina. Menor costo.
- **Plantas**
Cártamo transgénico al cual se le ha insertado el gen necesario para expresar la pro-insulina en sus semillas.

Vacunas. Actualmente se estudia una vacuna usada para la tuberculosis, que sería capaz de destruir las células inmunológicas que destruyen las células beta del páncreas, causante de la DM tipo 1. No existen vacunas para tratar la diabetes tipo 2.

Un objetivo importante de la terapia génica en la Diabetes Mellitus tipo 1, insulina para lo cual existen dos estrategias: la transferencia de genes en señales de la vía metabólica de la insulina y la liberación de hormonas resistentes a la insulina. Además, mencionamos otra estrategia que es pancreáticas que sean capaces de producir insulina.

El objetivo de la terapia génica es incrementar la captación de glucosa y adiposo, y disminuir la liberación de glucosa hepática.

Tema: Terapia génica revierte Diabetes tipo 2 en ratones

Tipo de TG: Somática "In-vivo"

Gen: Gen de la Leptina

Vector: Adenovirus

Órgano a Tratar: Hipotálamo

Vía de Administración: Inyección intracerebroventricular

Resultados:

Corto plazo: Tras la inyección y la expresión del gen en el hipotálamo no se evidenció salida de la leptina a la circulación periférica, pero si se produjo una euglucemia

Mediano plazo: Tras la terapia génica, en los ratones diabéticos los niveles de azúcar e insulina en la sangre han vuelto a su normalidad. En los ratones no diabéticos se encontraron niveles más bajos de insulina.

Largo plazo: Se presenta una homeostasis del metabolismo de la glucosa, sin que exista alteraciones en el consumo de energía, peso y

Tema: Alternativas

Tipo de TG: Somática

Gen: Gen humano

Vector: Ninguno

Órgano a Tratar: Músculo

Vía de Administración: Inyección a través de la piel.

Resultados:

Corto plazo: Tras la inyección para ser procesado como las musculares naturales, se han normalizados de insulina

Mediano plazo: Ofreciendo los niveles basales, períodos prolongados evitando con la inmunosupresión

Largo plazo: Aun así la secreción de insulina cambia en los niveles de células musculares

STEM CELLS

Combinación de trasplante de Stem Cells y medicamentos antidiabéticos

Para esto se utilizaron ratones modelo inducidos, que presentaban DM tipo 2, el equipo trasplanto al ratón, células progenitoras pancreáticas derivadas de células madre embrionarias. Estas células se desarrollaron en células beta funcionales, provocando que el ratón experimente un mejor metabolismo de la glucosa y un mejoramiento en la respuesta a la insulina. Los ratones que recibieron el trasplante en combinación con medicación antidiabética mostraron una rápida pérdida de peso, y se observó mejores resultados en el metabolismo de la glucosa, en relación a ratón que solo recibieron trasplante

Tratamiento de Diabetes Mellitus tipo 2 con Stem Cells

Se utiliza Stem Cells derivadas de Tejido Adiposo de pacientes con DM tipo 2, que pueden reducir los requerimientos de insulina en un 80%, por un periodo de 6 meses. Las células madre mesenquimales en estos pacientes produce un aumento en la producción de factores de transcripción pancreática y factores de desarrollo vascular.

En estos casos el usar células madres propias, ayuda al páncreas a regenerarse y aumentar su habilidad para producir insulina. Los pacientes experimentan mejoramiento en su salud incluso 6 meses luego del tratamiento

TERAPIA ANTISENTIDO (OAS)

Debido a que el receptor de insulina, tirosina fosforilasa, está reducido en las personas con DM II, tiene sentido el intentar aumentarla con el uso de inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa 1B.

En ratones, la eliminación del gen de la proteína PTP-1B, resulta en un aumento de la sensibilidad a la insulina.

ISI-1137175, un oligonucleótido antisentido inhibidor de PTP-1B, ha completado la fase 2 de pruebas en pacientes con DM tipo 2, en dosis estables, han mostrado disminución en los valores de glucosa en sangre.

Falta mencionar las iPSC, miRNA, lncRNA, blancos epigenéticos y otras técnicas de edición génica

La Farmacogenómica estudia como nuestra carga genética influye en la respuesta de nuestro organismo frente a los diferentes fármacos. Esto está considerado como Medicina de Precisión

ENFERMEDADES

GEN AFECTADO

TERAPIA GÉNICA

GEN AFECTADO (LOCI)	FENOTIPO CARDIACO
Proteína que se une al cassette de ATP	Enfermedad arterial coronaria
Aquí deberían constar solo los genes que ya han sido parte de ensayos de edición génica	
(CETP)	
Proteína relacionada con mink (KCNE2/MIRP1)	Arritmia cardíaca inducida por antibiótico
Inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno (PAI-1)	Infarto del miocardio
Stromelisin-1 (MMP-3)	Infarto de miocardio Angina

ESTRATEGIAS

IN VIVO: Administración al paciente un gen
EX VIVO: transformación celular

Tipo de Terapia Génica: Somática In vivo

Gen o genes a tratar: Gen del VEGF121 regulado por un promotor de citomegalovirus

Vector: pUC19 (4039pb)

Órgano a tratar: Corazón

Vías de administración: Durante toracotomía, inyección con jeringuilla de 1mL por vía intramiocárdica

RESULTADOS:

Los episodios semanales de angina de pecho disminuyeron drásticamente a los tres y seis meses.

Hubo evidencia de que ocurrió la transfección y la expresión del gen VEGF hubo una mejoría en el periodo evaluado y una regresión parcial de las isquemias tratadas; aunque la función ventricular no mejoró

ADN RECOMBINANTE

1.- Proteína estreptoquinasa por vía recombinante → medicamento a partir de estreptococo hemolítico C

2.- Utilizando factores de crecimiento con actividad angiogénica en forma de citosinas en forma de gen o

Hay más productos recombinantes y animales transgénicos que no se han tomado en cuenta

Estudio
Células
Tipo de

EFECTO MEDIATO

EFECTOS PARACEL

LIBERACIÓN DE:
Anticuerpos (IgG), IgM
Anticuerpos (IgG), IgM
Anticuerpos (IgG), IgM
Anticuerpos (IgG), IgM
Anticuerpos (IgG), IgM

Vías
intracel
inyecc
admin

RESU
mioca
eyec
dismin
previe
patol
cardio
ventric

IPSCs: Células con potencial cardiogénico, similar a pero sin recurrir al embrión. Se han utilizado cuatro factores de transcripción, compuestos químicos como reprogramación directa del fibroblasto miocardiocitos (Thy5 (GMT))

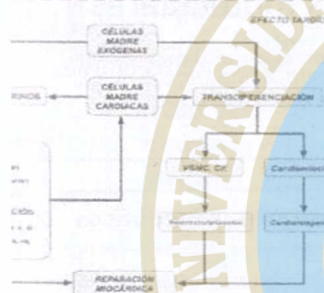
CARDIOVASCULARES

TERAPIA CELULAR

os: in vivo o in vitro
s: autólogas o alogénicas
e célula madre:

Células mononucleares de médula ósea (BMMC)
Células madre mesenquimales (MSC)
Células madre cardíacas (CSC)

Mecanismos de acción



de implante: Infusión coronaria vía catéter con balón, infusión intramiocárdica, y administración por vía venosa periférica.

ILTADOS: En infarto agudo del miocardio mejora la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, reduce el tamaño del infarto y promueve la remodelación ventricular favorable, mientras que en cardiopatías crónicas mejora la función cardíaca, calidad de vida y supervivencia.

los presentes en los blastocistos como factores inductores: micro RNA, el butirato o el Oct4. Se obtiene usando factores: Gata4, Mef2c y

EPIGENÓMICA

Los miRNAs: El miRNA - 33 regula la regulación del metabolismo lipídico del gen SREBP-2, existen otros como miRNA 21, miRNA 122 miRNA 758, miRNA 26

Drogas basadas en ARN para tratamiento cardiovascular

Blanco	Droga	Enfermedad
ApoB	Mipomersen ASO LNA	Hipercolesterolemia familiar
miR-17	Mipomersen ASO LNA	ICV, Hiperlipidemia
miR-9	SR-1601 anti PCSK9 ASO LNA	Hipercolesterolemia familiar
miR-101	SR-1601 ASO LNA	Hipercolesterolemia familiar
miR-208	Mipomersen ASO LNA	Mejora la función cardíaca
miR-29	miR-29 mimético modificado	Fibrosis
Familia miR-15	MG-133 ASO LNA	WM Reducción del área de infarto
miR-34	LNA anti miR-34a	Mejora la función cardíaca
miR-103/107	anti-miR modificado	Mejora la función cardíaca
miR-21	miR-21 ASO LNA	Mejora la función cardíaca

OAS: OAS de la apoB-100 muña ISIS 147764; ISIS 147483 Bloqueante de la secreción de ApoB Niveles de ARNm de ApoB-100 y colesterol total

METILACION: en estudios con Corazones embrionarios en ratones knock out se demostró que la regulación baja de HAS2 dependía del metiltransferasa 3b en la región valvular del corazón en formación.

XENOTRASPLANTES

Cerdos transgénicos como biomodelos y donantes de órganos.

Rechazo al órgano trasplantado: los anticuerpos involucrados en la respuesta inmunológica hiperaguda (HAR) son alfa-galactosa-1,3-galactosa. Se puede reducir la reacción inhibiendo: CD46, CD59, hHDAF o CD55.

ALIMENTOS TRANSGÉNICOS

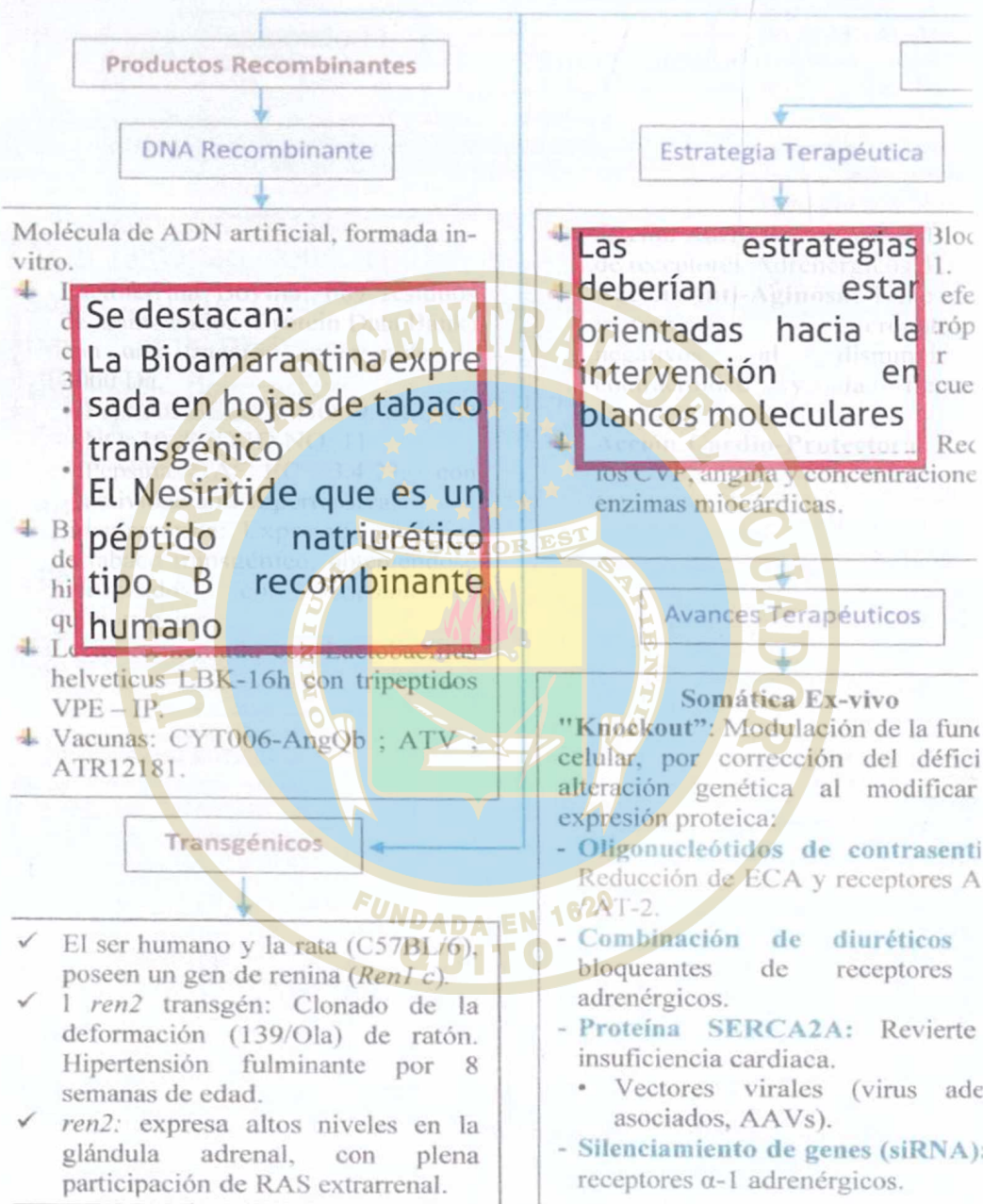
Tomate con alto nivel del péptido 6F con efecto mimético a la apolipoproteína.
Cebada y avena con altos niveles de beta-glucano.

FARMACOGENÓMICA:

Clopidogrel: polimorfismo del citocromo CYP 2C19
Anticoagulantes dicumarínicos: CYP2C9 y VKORC1
Simvastatina: no SLCO1B1

EPIDROGAS.- Resveratrol modula la función celular vascular, inhibe la oxidación de LDL, suprime la agregación plaquetaria y reduce el daño del

TERAPIAS MOLECULARES PARA EL TR



Mapa mental elaborado por Casa,P; Chilito,V y Espinoza,E. 2016

TRATAMIENTO DE LA HIPERTENSION ARTERIAL

Terapia Génica

miRNA

- *miR-1* y *miR-133*
- *miR15b*, y familia *miR17-92* (*miR17* y *miR106a*).
- *miR125a-5p*

Resultados

Corto Plazo: Diseñar y sintetizar oligonucleótidos de contrasentido, con reducción de angiotensinógeno y receptores AT-1.

Mediano Plazo: Disminución de la presión arterial y de la natriuresis, eyección cardíaca con bajas probabilidades de arritmias peligrosas.

Largo Plazo: Expresar el vector Ad-HD mediante mifepristone (MEP) "Sistema-gen" regulador inducible (MIGRS) para el control de la expresión de ANP.

- Vector auxiliar dependiente

Terapia Celular

Stem Cells

Tipo: Células madre hematopoyéticas CD341.

Objetivo: Observación, Tratamiento, Análisis de enfermedades hematológicas con trasplante de células madre hematopoyéticas.

Materiales: Células madre por Isolex 300i celular magnético.

Método: Administración de Células madre:

- Cardiopatías.
- Trans-epicárdicas
- Intra-coronaria.
- Trans-educárica.
- Intravenosa.

Resultados:

- Trans-diferenciación celular cardíaco.
- Factores parácrinos cardioprotectores.

Mencionan aquí a Prochymal que es una terapia alogénica con SC de médula ósea de donantes adultos que se ha usado en Enf de Crohn, Infarto Cardíaco y Diabetes

Falta especificar otros ensayos de Stem Cell, iPSC y los blancos terapéuticos epigenéticos

SALMONELÓSIS

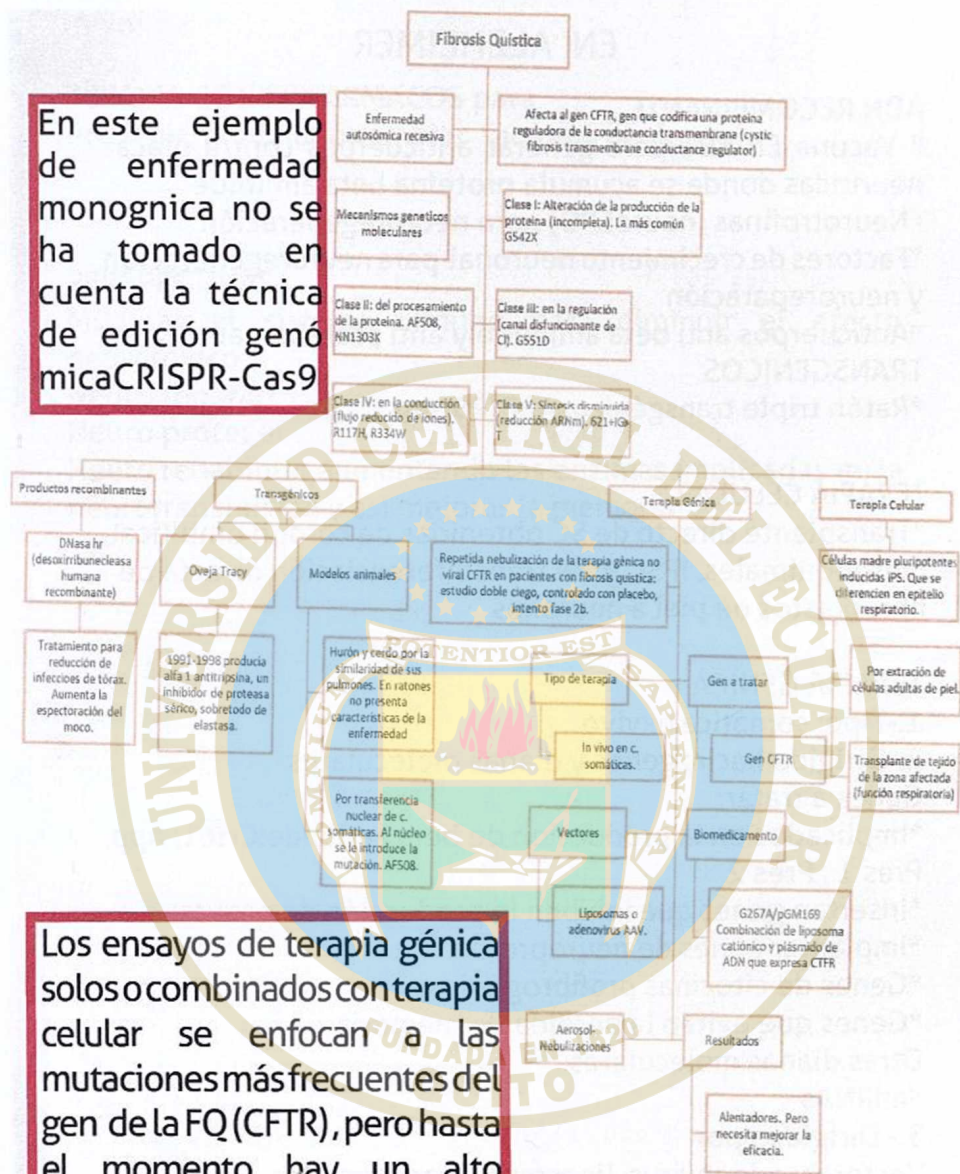
TRANSGÉNICOS	STEM CELLS	TERAPIA GÉNICA										
Vacunas comestibles Introducción de Salmonella spp en plantas, por medio de técnicas de ingeniería genética, en donde un gen sería el encargado de llevar la información necesaria para producir en su interior la proteína antigénica. Ventajas: ➤ Seguridad ➤ Fuerte inmunidad en mucosas ➤ Fácil administración Desventajas: ➤ Requiere de altos niveles de expresión del antígeno en el vegetal.	Tema: Células madre pluripotentes inducidas para la diferenciación en macrófagos como un sistema celular para el estudio de Salmonella u otros patógenos. Hay otros estudios que evalúan la respuesta de las SC de los nichos intestinales ante la infección por Salmonella 4. Obtención de precursores mieloides + altas concentraciones de M-CSF. 5. Diferenciación de los precursores mieloides en macrófagos maduros. Usos: Los macrófagos derivados de iPS pueden ser usados para estudiar la función de genes específicos de Salmonella durante la infección. iPSDMs constituyen un sistema flexible para estudiar las interacciones huésped/patógeno.	Tema: Salmonella entérica: un aliado en la terapia contra el cáncer. Tipo de Terapia Génica: ➤ Somática ➤ Ex-vivo <table border="1"> <thead> <tr> <th>Genes a tratar</th> <th>Cáncer</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>aroA, his G46, chey, flhGHI, invG, pop, sseD, ssrB</td> <td>Colon</td> </tr> <tr> <td>hisD2550, rpoS, lev, arg</td> <td>Próstata</td> </tr> <tr> <td>guaBA</td> <td>Linfoma: células T</td> </tr> <tr> <td>aroC</td> <td>Linfoma: células B</td> </tr> </tbody> </table> Vectores: Bacterianos Salmonella entérica viva atenuada Serotipos: Typhimurium y Typhi Órganos a tratar: Colon, pulmones, próstata, células T y B, útero, mamas, páncreas. Vía de administración: ➤ Intravenosa ➤ Intraperitoneal ➤ Oral Resultados: Corto plazo: inmunoterapia contra melanomas en ratones Mediano plazo: implementación del estudio en otras bacterias Largo plazo: obtención de bacterias que incidan directamente sobre el tejido tumoral sin dañar tejidos sanos.	Genes a tratar	Cáncer	aroA, his G46, chey, flhGHI, invG, pop, sseD, ssrB	Colon	hisD2550, rpoS, lev, arg	Próstata	guaBA	Linfoma: células T	aroC	Linfoma: células B
Genes a tratar	Cáncer											
aroA, his G46, chey, flhGHI, invG, pop, sseD, ssrB	Colon											
hisD2550, rpoS, lev, arg	Próstata											
guaBA	Linfoma: células T											
aroC	Linfoma: células B											

Fue eliminada la columna de ADN recombinante porque no se referían a productos de ese tipo.

Las que si son recombinantes son las vacunas de antígenos capsulares de polisacáridos conjugados con proteínas recombinantes para activar la respuesta inmunitaria

Mapa mental elaborado por Piguave, J. 2016

En este ejemplo de enfermedad monogénica no se ha tomado en cuenta la técnica de edición genómica CRISPR-Cas9



Los ensayos de terapia génica solos o combinados con terapia celular se enfocan a las mutaciones más frecuentes del gen de la FQ (CFTR), pero hasta el momento hay un alto número de variaciones de mutaciones reportadas de este mismo gen: >1300

Mapa mental elaborado por Castillo, E. 2016

EN ALZHEIMER

ADN RECOMBINANTE

- * Vacuna EB-101 para generar anticuerpos contra placas neuríticas donde se acumula proteína beta amiloide
 - *Neurotrofinas (neuroEPO) para neuroregeneración
 - *Factores de crecimiento neuronal para neuroregeneración y neuroreparación
 - *Anticuerpos anti beta amiloide y anti proteína tau
- ### TRANSGENICOS

- *Ratón triple transgénico: APP/PS/tau

TERAPIA CELULAR

- *Transplante directo de SC obtenidas de cordón umbilical, mesenquimales, iPSC y de transdiferenciación directa de fibroblastos de piel a neuronas

TERAPIA GENICA

1.-Tipo: somática exvivo

2.-Dirigida hacia: genes y dianas moleculares

Genes a tratar:

- *Implicados en la producción de beta amiloide: Crtc1, App, Pres 1, Pres 2
- *Insertan genes que inhiben la producción de prot tau
- *Implantar genes de neuroprotección
- *Genes de citocinas profibrogénicas
- *Genes que eviten la pérdida de memoria

Otras dianas moleculares:

- *miRNAs

3.- Dirigidos por

Vectores: adenovirus, liposomas, transposones

OAS

Antagomirs

Ribozimas

4.- Organo: hipocampo

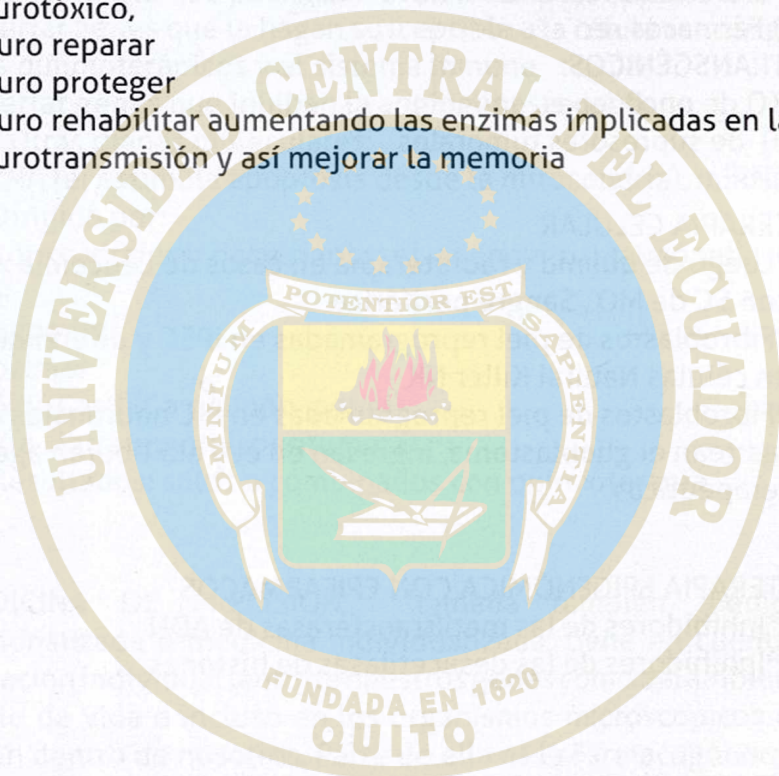
5.- Vía intracraneal, intratecal(OAS)

6.- Resultados: prevenir apoptosis neuronal y pérdida de la memoria

TERAPIA CON EPIFARMACOS para:
Prevenir, modular o cambiar factores de riesgo

PERSPECTIVAS

Modular el sistema inmune para disminuir el efecto
neurotóxico,
Neuro reparar
Neuro proteger
Neuro rehabilitar aumentando las enzimas implicadas en la
neurotransmisión y así mejorar la memoria



EN CÁNCER

ADN RECOMBINANTE

- * Vacunas: preventivas y terapéuticas: ej para HPV, para H. Pylori, para un tipo de Leucemia, curativas como por ej para Ca metastásico de próstata
- * Citoquinas recombinantes
- * Acs monoclonales recombinantes
- * Hormonas rec: EPO
- * Fármacos rec

TRANSGÉNICOS:

- KO de oncogenes
- KI de supresores tumorales

TERAPIA CELULAR

- *Luego de quimio y radioterapia en casos de Leucemia x ej con SC de MO , Sangre periférica
- *Fibroblastos de piel reprogramadas en iPSC y diferenciadas en células Natural Killer NK
- *Fibroblastos de piel reprogramadas en iSC neuronales que rastrean el glioblastoma, ingresan en él y allí liberan agentes terapéuticos

TERAPIA EPIGENÓMICA CON EPIFARMACOS

- *Inhibidores de las metiltransferasas de ADN
- *Inhibidores de las desacetilasas de histonas.

TRANSDIFERENCIACION DIRECTA DE Ca - SANA!!!

TECNICAS DE EDICIÓN GENÓMICA EN CANCER

1.-In vivo y exvivo, somática y germinal

2.-Dirigida hacia

2.1.-Genes:

*Inactivar oncogenes

*Activar o insertar o sobre expresar supresores tumorales

*Insertar genes de apoptosis del Ca (suicidas)

*Insertar genes de resistencia de células sanas a la quimioterapia

*Insertar genes que potencien el sistema inmune contra el Ca

*Insertar genes que le hagan susceptible a la célula cancerígena a los quimioterápicos y al sistema inmune

*Insertar genes que inhiban la angiogénesis del Ca

2.2.-Otras dianas moleculares:

lncRNA (ej estimula apoptosis desde la mitocondria), miRNA

3.- Dirigida por:

Vectores: virales y bacterianos: ej. adenovirus, salmonella

OAS

Antagomirs

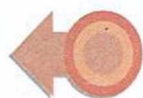
Ribozimas

CRISPR-Cas9 (Ca pulmón por ej)

4.- Vía : intratumoral, peritumoral

5.- Resultados: solos o combinados con quimioterapia

MEDICINA DE PRECISION llamada también medicina personalizada o medicina individualizada, tiene en cuenta la variación individual tanto de nuestros genes como del ambiente, estilo de vida e incluso en los organismos microscópicos que viven dentro de nosotros. Parte de ella es la Farmacogenómica que es el futuro del tratamiento, pronóstico y prevención de todas las enfermedades, especialmente del cáncer



REFERENCIAS

- 1.- Ackerman, J. (2016). Cuando la medicina de precisión se equivoca. *Genética Médica*, 3(65), 8-11.
- 2.- Altucci, L., Benedetti, R., Carafa, V., & Nebbioso, A. (2012). Trials with 'epigenetic' drugs: An update. *Molecular Oncology*, 6(6), 657-682.
- 3.- Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 22(2), 160-168.
- 4.- Baldeón Rojas, L., Weigelt, K., De Wit, H., Oscan, B., Van, O., & Sempertegui, F. (2016). Study on inflammation-related genes and microRNAs, with special emphasis on the vascular repair factor HGF and miR-574-3p, in monocytes and serum of patients with T2D. *Diabetol Metab Syndr*, 8(6), 42-46.
- 5.- Baldeón, L., Weigelt, K., De Wit, H., Ozcan, B., Van Oudenaren, A., & Sempertegui, F. (2014). Decreased Serum Level of miR-146a as Sign of Chronic Inflammation in Type 2 Diabetic Patients. *PLoS ONE*, 9(12), 9-12.
- 6.- Batlle, J., & López Fernández, M. (2014). Terapia Génica en Hemofilia. *Coruña*.
- 7.- Bausch, A., Kayser, J., & Lindauer, M. (2014). Mapping Internal Stress of in Vitro Cytoskeletal Networks with UV-Laser Ablation. *Biophysical Journal*, 106(2), 170-171.
- 8.- Bernhardt, R. (2005). Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. *Revista chilena de Neuro Psiquiatría*, 43(2), 123-132.
- 9.- Bernhardt, H. (2012). The RNA world hypothesis: the worst theory of the early evolution of life (except for all the others). *Biology direct*, 7(23), 5-10.
- 10.- Bonilla, J., & Alvarez, N. *Càncer*. UCE, Quito-Ecuador.
- 11.- Brivanlou, A., & Rosa, A. (2010). Synthetic mRNAs: Powerful Tools for Reprogramming and Differentiation of Human Cells. *Cell Stem Cell*, 549-550.
- 12.- Casa, P., Chilito, V., & Espinoza, E. Terapias moleculares para el tratamiento de la Hipertensión Arterial. UCE, Quito-Ecuador.
- 13.- Casado, M. (2007). Animals models in diabetes research. *Avances en Diabetología*, 23(6), 432-438.
- 14.- Castillo, E. *Fibrosis Quística*. UCE, Quito-Ecuador.
- 15.- Cavagnari, B. (2010). Transgenic animals generation. Regulation of gene expression. *Archivos Argentinos de Pediatr*, 108(5), 438-444.
- 16.- Chen, Q., Hao, W., Cio, C., Wang, R., Xu, X., Lu, H., ... Deng, C.-X. (2017). SIRT6 Is Essential for Adipocyte Differentiation by Regulating Mitotic Clonal Expansion. *Cell reports*, 18(13), 3155-3166.

- 17.- Córdova, L. (2009). Glicosilación de proteínas en bacterias patógenas. *El Residente*, 4(3), 105-110.
- 18.- Cruz-Bustillo, D. (20 de feb de 2017). Conferencia. Obtenido de Regulación de la expresión génica en eucariotes: http://fbio.uh.cu/sites/genmol/confs/conf7/index_euc.htm
- 19.- Cyranoski, D. (2016). CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. *539(7630)*, 479.
- 20.- Dana, A., & Tuller, T. (2012). Determinants of Translation Elongation Speed and Ribosomal Profiling Biases in Mouse Embryonic Stem Cells. *PLoS Computational Biology*, 8-11.
- 21.- Dell Oca, N., & Stoll, M. (2014). Metabolismo lipídico, micro RNAs y enfermedad cardiovascular. *Tendencias en medicina*, 44, 84-90.
- 22.- Emperador, S., Bayona-Bafaluy, M., Fernández-Marmiesse, A., Pineda, M., Felgueroso, B., López-Gallardo, E., . . . Montoya, J. (2016). Molecular-genetic characterization and rescue of a TSFM mutation causing childhood-onset ataxia and nonobstructive cardiomyopathy. *Eur J Hum Genet*, 124-126.
- 23.- Fujiwara, K., Yanagisawa, M., & Nomura, S. (2014). Reconstitution of intracellular environments in vitro and in artificial cells. *Biophysics*, 10, 43-48.
- 24.- Gadea, J., & García-Vásquez, F. (2010). Aplicaciones de los cerdos transgénicos en biomedicina. *ITEA*, 106(1), 30-45.
- 25.-García, G., & Muñoz, M. Enfermedades Cardiovasculares. UCE, Quito-Ecuador.
- 26.- GeneCopoeia. (2017). CRISPR & TALEN Genome Editing tools from GeneCopoeia. Recuperado el 20 de feb de 2017, de GeneCopoeiaTM: http://www.genecopoeia.com/product/genome-editing/?utm_source=GeneCopoeia&utm_medium=email&utm_campaign=Webinar-20141204-8&utm_unique=bWFyaXNvbF9hbWFuQHLhaG9vLmVz%250A
- 27.- Gervaise-Henry, C., Gasshan, W., Albuissou, E., Kolodziej, A., & Dousset, B. (2017). Cerebrospinal Fluid Aβ42/Aβ40 as a Means to Limiting Tube- and Storage-Dependent Pre-Analytical Variability in Clinical Setting. *Journal of Alzheimers Disease*, 57(2), 437-445.
- 28.- Gonzalez, F. (2014). Hacia donde va la medicina. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito)*, 39(2), 5-14.
- 29.- Graf, T., Martínez-Climent, J., Kallin, E., Richter-Larrea, J., Robles, E., & Rapino, F. (2013). C/EBP Induces Highly Efficient Macrophage Transdifferentiation of B Lymphoma and Leukemia Cell Lines and Impairs Their Tumorigenicity. *Cell Reports*, 3(4), 1153-1163.
- 30.- Guasgua, S., López, V., & Martínez, A. Diabetes Mellitus tipo II. UCE, Quito-Ecuador.

- 31.-Guevara, P., Heredia, M., & Chávez, D. Enfermedades cerebrovasculares. UCE, Quito-Ecuador.
- 32.- Hacker, I., Harrell li, R., Eichner, G., Pilitt, K., OBrochta, D., Handler, A., & Schetelig, M. (7 de march de 2017). Cre/lox-Recombinase-Mediated Cassette Exchange for Reversible Site-Specific Genomic Targeting of the Disease Vector, *Aedes aegypti*. *Sci Rep*, 43883.
- 33.- Hockemeyer, D., & Jaenisch, R. (2016). Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. *Cell Stem Cell*, 18(5), 573-586.
- 34.- Hollands, S., Lim, Y., Laws, S., Villemagne, V., Pietrzak, R., Harrington, K., & Porter, T. (2017). APOE 4 Genotype, Amyloid, and Clinical Disease Progression in Cognitively Normal Older Adults. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57(2), 411-422.
- 35.- Holliger, P., Herdewijn, P., McLaughlin, S., Peak-Chew, S.-Y., Wengel, J., Chaput, J., . . . Pinheiro, V. (2012). Synthetic Genetic Polymers Capable of Heredity and Evolution. *Science*, 336(6079), 341-344.
- 36.- Iacobazzi, V., Castegna, A., Infantino, V., & Andria, G. (2013). Mitochondrial DNA methylation as a next-generation biomarker and diagnostic tool. *Molecular Genetics and Metabolism*, 110(1-2), 25-34.
- 37.- Inoue, K., Ogonuki, N., Mekada, K., Yushiki, A., Sado, T., & Ogura, A. (2009). Sex-Reversed Somatic Cell Cloning in the Mouse. *Journal of Reproduction and Development*, 55(5), 566-469.
- 38.- Itzhaki, R., & et al. (2016). Microbes and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 979-984.
- 39.- Jara, A., & Kopchick, J. (2013). Proteómica: una aproximación integral. *Anales de Pediatría*, 78(3), 137-139.
- 40.- Jaramillo, B., Lema, M., & Vizarrea, E. Enfermedades isquémicas de corazón. UCE, Quito-Ecuador.
- 41.-Jing, L., Jing-Wen, L., Feng, Z., Wang, J., & Zhang, J.-R. (2016). Epigenetic switch driven by DNA inversions dictate phase variation in streptococcus pneumoniae. *PLOS pathogens*, 1-21.
- 42.- Ketting, R., Roelen, B., Butter, F., Zischler, H., Van der Westerlaken, L., Chuva de Sousa, S., . . . Roovers, E. (2015). Piwi Proteins and piRNAs in Mammalian Oocytes and Early Embryos. *Cell Reports*, 10(12), 2069-2082.
- 43.- Koychev, Koychev, I., Gunn, R., Firouzian, A., Lawson, J., Zamboni, G., & Rida, B. (2017). PET Tau and Amyloid- β Burden in Mild Alzheimer's Disease: Divergent Relationship with Age, Cognition, and Cerebrospinal Fluid Biomarkers. *Journal of Alzheimer's Disease*, 283-293.
- 44.-Lewis, R. (26 de feb de 2014). FDA Considers Mitochondrial DNA Replacement. *Medscape Medical News*, págs. 1-2.
- 45.- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., . . . Scott, M. (2016). *Biología Celular y Molecular* (7ma ed.). Bogotá: Panamericana.

- 46.-Martínez-Herbas, S., García-García, A., & Chaves, F. (2007). Técnicas para el estudio del ADN y el ARN. Introducción al estudio de proteínas. *Avances en Diabetología*, 23(6), 419-424.
- 47.- Martín-Molina, F. (2013). *Gene Therapy - Tools and Potential Applications*. Union Europea: Intech.
- 48.- Mayo, A., Molina, L., & Tipán. *Salmonelosis*. UCE, Quito-Ecuador.
- 49.- Milo, R., & Phillips, R. (2012). What is faster, transcription or translation. Recuperado el 12 de enero de 2017, de Cell biology by the numbers: <http://book.bionumbers.org/what-is-faster-transcription-or-translation/>
- 50.- Montoya, J. (2010). *Del genoma mitocondrial a la enfermedad*. Zaragoza: Prensas universitarias.
- 51.- Morán Gonzalez, D., & Domínguez Hil, A. (2005). Terapia antisentido: situación actual. 29(4), 269-282.
- 52.- Moreira, M., Cárdenas, L., & Rodríguez, G. *Cáncer*. UCE, Quito-Ecuador.
- Moreno, A. *Artritis Reumatoide*. UCE, Quito-Ecuador.
- 53.- Mosquera, A., Montenegro, X., & Jaramillo, V. *Hipertensión Arterial*. UCE, Quito-Ecuador.
- 54.- NASA's Human Research Program. (26 de January de 2017). Astronaut twin study hints at stress of space travel. Recuperado el 20 de febrero de 2017, de Nature: <http://www.nature.com/news/astronaut-twin-study-hints-at-stress-of-space-travel-1.21380>
- 55.- Nebbioso, A., Carafa, V., Benedetti, R., & Altucci, L. (2012). Trial with epigenetic drugs: an update. *Molecular Oncology*, 657-682.
- 56.- Paes de andrade, P., Aragao, F., Colli, W., Dellagostin, O., Finardi-Filho, F., & Hirata, M. (2016). Use of transgenic *Aedes aegypti* in Brazil: risk perception and assessment. *Bull World Health Orga*, 94(10), 766-771.
- 57.- Panés, J., García-Olmo, D., Van Assche, H., Colombel, J., Reinisch, W., Baumgart, D., . . . Danese, S. (2016). Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *The Lancet*, 388(10051), 1281-1290.
- 58.- Paz y Miño, C., & López Cortés, A. (2014). *Genética Molecular y Citogenética Humana: fundamentos, aplicaciones e investigaciones en el Ecuador*. Quito-Ecuador: UDLA.
- 59.- Paz y Miño, C., Cabrera, A., Castro, B., Guevara, M., López-Cortés, A., Serrano, M., . . . Rodríguez, C. (2012). Estudio de variantes genéticas de genes asociados a la enfermedad de Alzheimer en población ecuatoriana. *Rev.Ecu.Med.Eugenio Espejo*, 1(1), 5-13.

- 60.- Paz y Miño, C., Robles, P., Muñoz, M., & López-Cortés, A. (2011). Cáncer de próstata: Asociación de características patológicas con los polimorfismos genéticos C677T y A1298C del gen metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) en población cuatoriana. *Rev.Oncol.Ecu*, 21(1-2), 13-20.
- 61.- Piguave, J. Salmonelosis. UCE, Quito-Ecuador.
- 62.- Quintana-Gallego, E., Delgado-Pecellin, I., & Calero, C. (2014). CFTR Protein Repair Therapy in Cystic Fibrosis. *Archivos de bronconeumología*, 50(4), 146-150.
- 63.- Riquelme, I., Ili, C., Roa, J., & Brebi, P. (2016). Long non-coding RNAs in gastric cancer: mechanisms and potential applications. *Oncotarget*, 1-17
- 64.- Romesberg, F., Correa, I., Foster, J., Dai, N., Chen, T., Laverne, T., . . . Malyshev, D. (2014). A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet. *Nature*, 509, 385-388.
- 65.- Romesberg, F., Li, L., Laverne, T., Zou, A., Feldman, A., Lamb, B., & Zhang, Y. (2017). A semisynthetic organism engineered for the stable expansion of the genetic alphabet. *PNAS Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(6), 1317-1322.
- 66.- Rosa, A., & Brivanlou, A. (2010). Synthetic mRNAs: Powerful Tools for Reprogramming and Differentiation of Human Cells. *Cell Stem Cell*, 549-550.
- 67.- Rossi, D., Schaalaege, T., Cowan, C., Collins, J., Brack, A., Daley, G., . . . Warren, L. (2010). Highly Efficient Reprogramming to Pluripotency and Directed Differentiation of Human Cells with Synthetic Modified mRNA. *Cell Stem Cell*, 7(5), 618-630.
- 68.- Saitou, M., & Miyauchi, H. (2016). Gametogenesis from Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell*, 18(6), 721-735.
- 69.- SBI. (2017). Genome Engineering tools for edition. Recuperado el 20 de feb de 2017, de Systembio.com: <https://www.systembio.com/genome-engineering>
- 70.- Scibona, P., Angriman, F., Simonovich, V., Heller, M., & Belloso, W. (2014). Farmacogenómica cardiovascular. *Archivos de Cardiología de México*, 84 (1), 25-31.
- 71.- Sempertegui, F., Estrella, B., Rodriguez, O., Gomez, D., Cabezas, M., Salgado, G., . . . Hamer, D. (2014). Zinc as an adjunct to the treatment of severe pneumonia in Ecuadorian children: a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 497-505.
- 72.- Séralini, G.-E., Clair, E., Mesnage, R., Gress, S., Defarge, N., Malatesta, M., . . . de Vendômois, J. (2014). Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environmental Sciences Europe*, 26(14), 1-17.

- 73.- Serna-Cuellar, E., & Santamaría-Solís, L. (2013). Protocolo de extracción y procesamiento de células madre adultas de tejido adiposo. *Cirugía Plástica Ibero Latinoamericana*, 39(1), 44-50.
- 74.- Soriano-Tárraga, C., Jimenez-Conde, J., Giralt-Steinhauer, E., Mola-Caminal, M., Vivanco-Hidalgo, R., Ois, A., . . . Roquer, J. (2016). Asociación epigenética del gen TXNIP a diabetes mellitus tipo 2 y a hiperglicemia. *Genética Médica*, 1-4.
- 75.- Tipaz, L. Diabetes . UCE, Quito-Ecuador.
- 76.- University of UTAH Health Sciences. (2015). Learn.Genetics. Recuperado el 20 de feb de 2017, de Genetic Science Learning Center: <http://learn.genetics.utah.edu/>
- 77.- Valdespino-Gomez, V. M., & Valdespino-Castillo, V. E. (2012). Terapia epigenética en el Cáncer: logros y perspectivas. *Cirugía y Cirujanos*, 80, 470-480.
- 78.- Venter, C., Merryman, C., Hutchinson, C., Smith, H., & Gibson, D. (s.f.). Chemical synthesis of the mouse mitochondrial genome. *Nature Methods*, 7, 901-903.
- 79.- Wernig, M., Sudhof, T., Yuko, K., Vierbüchen, T., & Pang, Z. (2010). Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*, 463, 1035-1041.
- 80.- WHO. (15 de march de 2016). Mosquito (vector) control emergency response and preparedness for Zika virus. Recuperado el 20 de ene de 2017, de WHO: http://www.who.int/neglected_diseases/news/mosquito_vector_control_response/en/





