



# **UNIVERSIDAD DEL SURESTE**

*OSCAR DE JESÚS GONZÁLEZ DEL CARPIO*

*8° SEMESTRE*

*DR. JOSE MIGUEL CULEBRO RICALDI*

*BIOLOGÍA MOLECULAR EN LA CLINICA*

*MEDICINA HUMANA*

*UNIDAD 1*

**“BIOLOGÍA MOLECULAR  
EN MEDICINA ”**





## ***BIOLOGÍA MOLECULAR EN MEDICINA***

La biología molecular, entendida hoy en día como el área de estudio de las moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) y de ácido ribonucleico (ARN), es un campo que vincula diferentes aproximaciones en el funcionamiento de cualquier organismo vivo. A nivel molecular, el ADN y el ARN están encargados de preservar y traducir a proteína la información necesaria para el funcionamiento celular, acompañado de los lípidos y carbohidratos, que en conjunto con las proteínas estructuran, mantienen y dinamizan el complejo molecular conocido como célula. En el nivel celular, los procesos de la génesis, la diferenciación, la división y la muerte, generados por la interacción coordinada de las moléculas tanto en el interior como en el exterior de la célula, permiten jerarquías de organización y separación funcional en los tejidos y los órganos que componen nuestro organismo.

En la historia de la biología molecular se pueden encontrar tres momentos que han marcado el desarrollo científico y tecnológico de la biología y la medicina, y que han y seguirán dejando alguna una marca imborrable en la sociedad. El primero de ellos fue la descripción de la estructura de la doble hebra de ADN que realizaron Watson y Crick en 1953, descubrimiento que los catapultó a obtener el premio Nobel en 1962 por su aporte a la descripción de las bases bioquímicas que posibilitan la codificación de la información genética en las células.

El segundo momento en la historia de la biología molecular se da en el auge de estos desarrollos, al concebir la posibilidad de leer el código genético, fragmento a fragmento, como un libro separado por 46 capítulos denominados cromosomas.

Los aproximadamente treinta y ocho mil genes o secuencias con sentido biológico descritos en el Proyecto genoma humano, dan paso al tercer momento de la historia conocido como la era de las ómicas.

### ***EL GENOMA HUMANO***

Las células del cuerpo humano almacenan la información genética en 23 pares de cromosomas, a excepción del óvulo y el espermatozoide, que sólo tienen un juego de 23 cromosomas, y el eritrocito y la plaqueta, que en el proceso de diferenciación pierden su núcleo y por ende no tienen información genética en su interior. Los cromosomas contienen el ADN y están agrupados en el núcleo de la célula en conjunto con proteínas, ARN, lípidos, carbohidratos y compuestos orgánicos e inorgánicos que permiten la replicación del ADN en el proceso de formación de nuevas células.

### ***EL ADN Y LA REPLICACIÓN***

Después de 1953, el concepto de ADN tomó forma y fue representado como una doble hélice. Los nucleótidos, que son compuestos formados por un azúcar, una base nitrogenada y un grupo fosfato, unen la doble hélice por medio de apareamientos complementarios entre las bases nitrogenadas, y a su vez, cada hélice está anclada



por los grupos fosfato de cada nucleótido, para conformar cadenas dobles de forma espiral de hasta 220 millones de nucleótidos unidos. En términos generales, la replicación del ADN se inicia con la separación de la doble hélice para generar a partir de cada una de las hebras parentales (cadenas originales o hebras molde) dos hebras hijas complementarias (cadenas nuevas), lo que da origen a copias idénticas del material genético de doble cadena, formadas por una hebra parental y una hebra hija

### **EL ARN Y LA TRANSCRIPCIÓN**

La transcripción se ha descrito como el paso de la información almacenada en las hebras de cadena doble de ADN a cadenas sencillas de ARN, el cual lleva consigo las tripletas específicas que darán forma a la proteína, aminoácido por aminoácido. Este mecanismo permite en parte la selección, el procesamiento y el transporte del ARN a los ribosomas para la producción de las proteínas que mantienen la forma, el tamaño, la localización y la función de cada célula en su ambiente específico.

### **LAS PROTEÍNAS Y LA TRADUCCIÓN**

El punto de inicio de la traducción es un ARNm maduro, es decir, sólo con los exones necesarios para producir la proteína en particular; cabe aclarar que el empalme del ARN no sólo elimina los intrones, también puede eliminar algunos exones para producir diferentes isoformas de una proteína. Una vez el ARNm sale del núcleo y llega a los ribosomas que se encuentra en el citoplasma, se encuentra con los ARNt y los ARNr, van a ser esenciales en la interpretación de las tripletas que trae el ARNm y la traducción de las tripletas, poniendo aminoácido por aminoácido hasta formar una cadena de aminoácidos o cadena polipeptídica, que da forma a la proteína

Aislamiento de ácidos nucleicos

### **AISLAMIENTO DE ADN**

La extracción del ADN inicia con la homogenización del tejido o lisis celular, dependiendo de la muestra obtenida. Este primer paso está acompañado de detergentes y algunas enzimas líticas que permiten la separación de las células en el tejido, y el daño de la membrana celular y nuclear para la liberación del contenido celular, entre ellos las proteínas, el ADN y el ARN. Posteriormente, se utiliza la enzima proteinasa K para separar los ácidos nucleicos de las proteínas y una ribonucleasa para eliminar el ARN; el ADN es purificado con una solución de fenol-cloroformo en columnas de sílica o por una precipitación salina, para dejar en solución el ADN celular o genómico. El producto de este procesamiento es precipitado con etanol y recuperado por centrifugación, y el ADN es resuspendido y cuantificado para determinar la concentración obtenida.

### **AISLAMIENTO DE ARN**

Para el aislamiento del ARN se realiza un procedimiento similar al del ADN, pero bajo condiciones estrictas de protección de las cadenas sencillas de ARN, las cuales son



altamente inestables y son degradadas fácilmente por ribonucleasas. En el aislamiento de ARN se debe asegurar una cadena de frío y la inhibición de las ribonucleasas presentes en la suspensión, el medio circundante y los elementos utilizados durante el procedimiento; para esto, se debe limpiar el mesón, los reactivos, los elementos de protección y los equipos a utilizar con inhibidores de ribonucleasas, presentes en las soluciones de homogenización y de lisis celular.

### REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

La reacción en cadena de la polimerasa utiliza el mecanismo biológico de la replicación celular para la duplicación en serie de fragmentos específicos de ADN. La reacción en cadena de la polimerasa tiene una serie de componentes que son claves para el adecuado desarrollo de la prueba. En primer lugar es esencial tener un aislamiento de ADN genómico del paciente o ADN de la muestra con una alta pureza, evitando al máximo cualquier contaminación cruzada con células externas, microorganismos o ADN libre, que pueda generar la amplificación de material genético que no corresponda con el ADN de estudio y arrojar resultados falsos positivos o resultados alterados.

Las aplicaciones de la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en la práctica clínica son diversas y se ha logrado consolidar plataformas y estuches comerciales para la discriminación de mutaciones puntuales en enfermedades genéticas, variantes oncogénicas, polimorfismos de nucleótidos simples, metilación de ADN, número de copias de ADN o ARN (carga viral), identificación de microorganismos, entre otras aplicaciones en desarrollo. La reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa puede generar datos absolutos o relativos de acuerdo a la aplicación o resultado que se requiera.

### UTILIDAD CLÍNICA DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA CUANTITATIVA

El uso de la biología molecular, en este caso la reacción en cadena de la polimerasa, es una herramienta esencial para la toma de decisiones en todas las etapas de la atención del paciente: la evaluación del riesgo, la detección, el diagnóstico, la estadificación y el pronóstico, la selección de la terapia, y el seguimiento en diferentes enfermedades. Actualmente hay muchos marcadores moleculares que se usan en la práctica médica, que aumentan día tras día a medida que se comprende la enfermedad desde la biología celular y molecular.

Tabla 4. Utilidad clínica de algunos marcadores moleculares

Evaluación de riesgo	Tamizaje	Diagnóstico	Selección de la terapia	Seguimiento
Gen BRCA1	Virus del papiloma humano	Gen HFE	Gen BRAF	Gen de fusión BCR-ABL
Gen HFE	Gen HFE	Bacteria	Gen KRAS	Carga viral
Gen Factor V de Leiden	Resistencia bacteriana	Hongos	Gen Her/Neu2	CBFB/MYH11
Gen protrombina		Virus	Resistencia bacteriana	
Gen Septina 9 metilado		Gen de fusión BCR-ABL		
		Gen BCL1/BCL2		
		Inversión CBFB/MYH11		