



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
TRABAJO MONOGRAFICO**



AVANCES Y APLICACIONES EN LA INGENIERÍA GENÉTICA

Autores:
Méndez Verónica
Montilla Yarine
Villanueva Joselin

Tutor (a):
Alcira Argüello

Bárbula, 2016



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
TRABAJO MONOGRAFICO**



AVANCES Y APLICACIONES EN LA INGENIERÍA GENÉTICA

Autores:

Méndez Verónica
Montilla Yarine
Villanueva Joselin

Tutor (a):

Alcira Argüello

RESUMEN.

La ingeniería genética es una rama de la biotecnología que consiste en modificar las características hereditarias de un organismo en un sentido predeterminado mediante la alteración de su material genético. Suele utilizarse para conseguir que determinados microorganismos como bacterias o virus, aumenten la síntesis de compuestos, formen compuestos nuevos, o se adapten a medios diferentes. Además, tiene otras aplicaciones muy importantes para los seres humanos y abre un futuro de inmensas posibilidades aunque exento de prevenciones. La siguiente investigación tiene como objetivo general Exponer los avances y aplicaciones en la Ingeniería genética en el Diagnóstico del cáncer y como objetivos específicos, definir la ingeniería genética, describir sus aplicaciones en el diagnóstico del cáncer y determinar la importancia de la ingeniería genética en el diagnóstico del cáncer, metodológicamente es una monografía documental bibliográfica. Por lo tanto, la ingeniería genética se presenta en la medicina, ya que es importante estudiarla para saber sus aspectos positivos y negativos que tiene en la sociedad con relación a los seres humanos y se nos presenta en la actualidad como un campo muy amplio. Sobre ella pocas son las cosas que conocemos y muchas son las que desconocemos. En el mismo se pretende hacer una puesta al día de los conceptos básicos de la nueva biotecnología para los profesionales de ciencias de la salud, dada la importancia creciente que está adquiriendo esta ciencia.

Palabras clave. Ingeniería, genética, bacterias, virus



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMEDICAS Y TECNOLOGICAS
TRABAJO MONOGRAFICO**



AVANCES Y APLICACIONES EN LA INGENIERÍA GENÉTICA

Autores:

Méndez Verónica
Montilla Yarine
Villanueva Joselin

Tutor (a):

Alcira Argüello

SUMMARY.

Genetic engineering is a branch of biotechnology that is to change the hereditary characteristics of an organism in a predetermined way by altering its genetic material. Commonly it used to ensure that certain microorganisms such as bacteria or viruses, increase the synthesis of compounds, forming new compounds, or adapt to different media. It also has other important applications for humans and opens a future of immense possibilities but free of prejudices. The following research is generally set forth the advances and applications in genetic engineering and specific objectives, define genetic engineering, describe their applications and determine the importance of genetic engineering, methodologically documentary is a bibliographic essay. Therefore, genetic engineering is presented in medicine, as it is important to study to know your strengths and weaknesses you have in society in relation to humans and is presented today as a very broad field. On it there are few things we know and there are many unknowns. The same is to do an update of the basics of the new biotechnology for professionals in health sciences, given the growing importance of acquiring this science.

Key words . Ingenieria, genetica, bacterias , virus

Research Line : Biotechnology in the Pharmaceutical Industry

INTRODUCCION

La vida tiene un fundamento químico y los procesos que la hacen posible están protagonizados por biomoléculas, que para llevar a cabo sus efectos biológicos utilizan entre otros, sistemas capaces de generar, transmitir o perpetuar una información, en las células la información necesaria se encuentra codificada en una molécula conocida como ácido desoxirribonucleico o ADN.

Este ADN está dividido en gran cantidad de sub-unidades (la cantidad varía de acuerdo con la especie) llamadas genes. Cada gen contiene la información necesaria para que la célula sintetice una proteína. Así los genes controlan todos los aspectos de la vida de cada organismo, incluyendo metabolismo, forma, desarrollo y reproducción.

Ahora bien, la biotecnología es la ciencia que se ocupa de la utilización de procesos biológicos. Por lo que, la biotecnología no es una metodología moderna, si no que ahora se utilizan esas mismas técnicas pero modificadas según los avances aportados por la genética molecular.¹

La biotecnología proporciona herramientas para el desarrollo de una nueva disciplina denominada patología molecular, que permite establecer un diagnóstico del cáncer basado, no en la morfología del tumor, como hace la anatomía patológica clásica (microscopía combinada con histoquímica), sino en sus características patogénicas debidas a las alteraciones genéticas y bioquímicas. La patología molecular incorpora técnicas de inmunohistoquímica y análisis genético al estudio de proteínas o ácidos nucleicos extraídos de los tumores. Estas técnicas permiten no sólo la detección precoz de las células malignas sino también su mejor clasificación. El desarrollo de técnicas cada vez más sensibles, basadas en el uso de la PCR y de anticuerpos monoclonales resulta esencial para este fin. Por otro lado, se sabe que algunas personas presentan una predisposición congénita a desarrollar cáncer, debido a la presencia de mutaciones en genes concretos heredados de sus progenitores.

La secuenciación de estos u otros genes relacionados con el cáncer permite determinar las alteraciones e identificar a las personas con un riesgo muy elevado de desarrollar un tumor. Finalmente, cuando se diagnostica un cáncer es necesario definir de una manera

muy precisa sus características biológicas, con objeto de poder predecir su pronóstico clínico y su respuesta al tratamiento.²

Significa entonces, que la siguiente investigación tiene como objetivo general Exponer los avances y aplicaciones en la ingeniería genética y como objetivos específicos, definir que es la ingeniería genética, describir sus avances y aplicaciones en el diagnóstico y determinar la importancia de la biotecnología en el diagnóstico del cáncer, ya que la Biotecnología alcanza hoy múltiples campos de la investigación médica, por lo que es importante estudiarla para saber sus aspectos positivos y negativos que tiene en la sociedad con relación a los seres humanos. En la actualidad, gracias a la manipulación genética de las bacterias, se han podido obtener sustancias químicas de interés para el ser humano, proteínas que se usan como vacunas o drogas para curar determinadas enfermedades, aumentar la síntesis de compuestos, formar compuestos nuevos.

Desde el punto de vista teórico, la ingeniería genética, es un tema extenso pero con muy poca información entre los estudiantes de salud específicamente en los estudiantes de Histotecnología, es por ello que esta investigación será un gran aporte, ya que permitirá conocer a fondo su desempeño e importancia de como la Biotecnología está incorporada a la carrera. Hoy en día, el nivel molecular no es sólo un nivel de investigación biomédica, sino también un nivel de actuación diagnóstica, pronóstica y terapéutica. Por ello, es imprescindible preparar adecuadamente a los futuros profesionales de la salud, y sólo si disponemos de profesionales competentes, podremos hacer frente con éxito a los retos del futuro.

El ejercicio profesional de los años venideros exigirá competencia para abordar a nivel molecular los problemas de la salud. Por ello, harán falta profesionales que posean los conceptos y los elementos de lenguaje molecular necesarios para comprender las bases moleculares de la salud y de la enfermedad. Profesionales capaces de adquirir constantemente la información bioquímica necesaria para mantener su competencia, y capaces de aplicar dicha información a la solución de los problemas que les conciernan; profesionales con **habilidad** de autoaprendizaje para poder sustituir los conceptos viejos por los nuevos, haciendo uso de todas las posibilidades que las tecnologías modernas de la información pondrán a su alcance.

DESARROLLO

Reseña Histórica

En 1944 Avery, McLeod y McCarty en la Universidad Rockefeller descubrieron que la información genética se albergaba en las moléculas de ADN. Nueve años más tarde Watson y Crick desentrañaron la estructura de dicho compuesto, lo que abrió las puertas a la comprensión de los procesos de replicación, transcripción y traducción del ADN y por ende a explicar el código genético. En un corto periodo de tiempo, una nueva ciencia empezó a desarrollarse, pasando de la investigación de una serie de sustancias proteicas de interés biomédico al estudio de los mecanismos de su producción y a las posibles alteraciones en los mismos. La genética molecular, conjuntamente con la terapia génica y la ingeniería genética, formaban los tres pilares de la nueva biotecnología. La genética molecular, con un interés clínico diagnóstico, la ingeniería genética, con una serie de productos muy importantes para la industria farmacéutica y la terapéutica, se han desarrollado de manera espectacular, mientras la terapia génica todavía está en sus comienzos, absolutamente experimentales.

Antecedentes de la Investigación

Sánchez. A, (2012) realizo tesis llamada “Análisis de genes modificadores en cáncer de mama” se sabe que los polimorfismos genéticos de genes que codifican diversas proteínas, entre ellas citosinas, tienen efectos en los valores circulantes y/o funcionalidad de las mismas, y por ello pueden influir sobre el fenotipo de enfermedades, por este mecanismo son clasificados como genes modificadores. OBJETIVO: Analizar los valores y los polimorfismos de los biomarcadores (IL-8, TNF- α y AAT) en pacientes con cáncer de mama con fines de diagnóstico. METODOLOGIA: En este estudio de casos y testigos se estudiaron un total de 30 pacientes con cáncer de mama confirmado por histopatología y 21 individuos sanos. Se obtuvo la historia médica, clínica y patológica del tumor y de los planes de tratamiento de los pacientes. Dos polimorfismos del gen AAT (alelo S y Z), un polimorfismo de la IL-8 (-251 A/T del promotor de IL-8), un polimorfismo de MBL-2 (Alelo B, C y D del exón 1) se realizaron mediante PCR-RFLP.

Adicionalmente, los valores de proteínas plasmáticas de AAT, IL-8 y TNF α se midieron por ELISA. CONCLUSIONES: En este estudio de casos y controles, la presencia de los alelos IL-8 (-251T) y TNF- α (-308 A) pueden aumentar el riesgo de cáncer de mama en mujeres mexicanas del noreste de México. La sobreexpresión de la IL-8 y AAT se pueden correlacionar directamente con la patogénesis del cáncer de mama. Estos biomarcadores se pueden cambiar con otros marcadores para el diagnóstico presuntivo. ³

La Ingeniería Genética

Es necesario explicar detalladamente en qué consiste la ingeniería genética, pero primero debemos explicar en qué se basa la misma, la genética. El hecho de que una célula viva vaya a realizar específicas tareas de un modo ordenado y específico está determinado por el material genético, por las instrucciones contenidas en una colección de mensajes químicos llamados genes. Estos genes son pasados de una generación a la siguiente, así que se hereda de los padres una cantidad considerable de este material genético. Los científicos ahora comprenden el sistema en el que se ordena este código u instrucciones químicas. Se basa en una sustancia llamada Ácido Desoxirribonucleico (ADN). Un gen es, de hecho, un segmento de ADN con un mensaje decodificado en su estructura química.

La ingeniería genética, o manipulación, envuelve los genes de su posición normal en un organismo y transferirlos a cualquier otro lugar o ponerlos de vuelta en el mismo organismo, pero en diferente combinación. Antes de que los científicos pudieran realizar dicha manipulación genética, tuvieron que descubrir los secretos del código genético. Ellos descubrieron que el ADN es una molécula doble larga, con forma de espiral, como una hélice. Cada gen es una parte de una tira del ADN. A diferencia del espiral normal formado por el ADN, las proteínas se forman en una enorme variedad de figuras tri-dimensionales. El cuerpo humano posee alrededor de 30,000 tipos diferentes de proteínas y cada una juega un papel principal y específico en la vida.

El ADN es transportado en secuencias de aminoácidos en proteínas, a través de un intermediario que se llama RNA. De todas maneras, para ser capaces de controlar el proceso de producción de proteínas, los científicos necesitaron demostrar en detalle el código del ADN. Identificar los genes no fue suficiente. El próximo paso fue ser capaz de copiar el gen e insertarlo en otra célula. Para hacer esto, los científicos usaron nuevas técnicas bioquímicas, envolviendo enzimas especiales, para romper al ADN en el momento deseado, para insertar nuevos segmentos y unirlos toda de nuevo.⁵

Aplicaciones de la Ingeniería Genética

Las pautas del manejo de los especímenes y las técnicas de biología molecular que se utilizan en Patología Molecular han sido desarrolladas en laboratorios de investigación. Estas han sido adaptadas a las muestras propias del trabajo anátomo-patológico, es decir a muestras de tejidos histológicas, ya sean especímenes frescos sin ningún tipo de fijación, o muestras preservadas en diversos fijadores y bajo diversas condiciones.⁴

La Patología Molecular es una sub-especialidad en Anatomía Patológica que se define por las técnicas que se utilizan en ella y por los elementos que se analizan, básicamente ácidos ribonucleico (ARN) y desoxirribonucleico (ADN), a partir de muestras de tejidos (especímenes de biopsias o autopsias) o células (exámenes citológicos). La Patología Molecular tiene en la actualidad una aplicación práctica limitada medicina, laboratorios de patología molecular ubicado en Maracaibo, Edo Zulia se encarga de desarrollar técnicas de ingeniería genética aplicadas a la Inmunohistoquímica y patología molecular, el Personal de histotecnólogos han recibido entrenamiento en técnicas de IHQ, tanto para ayudar a otros laboratorios de patología de Caracas, como del interior del país.⁶

La IHQ supera a las técnicas convencionales en patología y es un método de diagnóstico y de investigación por el cual con el uso de anticuerpos específicos contra antígenos tisulares es posible determinar con precisión y certera especificidad la presencia de ciertos antígenos en los tumores. Esta técnica sirve así para indicar la histogénesis de las neoplasias y es muy útil en los tumores poco diferenciados por cuanto el tratamiento de los tumores malignos dependerá del diagnóstico preciso de las neoplasias el cual solo se logra en muchas ocasiones a través de la IHQ. El tratamiento de los linfomas y neoplasias del sistema linfohematopoyético dependerá igualmente de su tipificación y esta se hace en los tejidos a través de la IHQ. Algunas proteínas celulares y hormonas pueden servir como factores de pronóstico, o determinar si existen receptores hormonales en las células tumorales, o factores predictivos para el tratamiento que puede ofrecer a los pacientes.

Desde mediados año 2005 inició su preparación en Histotecnología en el Laboratorio de Patología del hospital Coromoto de la ciudad de Maracaibo la Srta. Vanessa Méndez, Licenciada en Nutrición y Dietética de LUZ (2003). En el laboratorio, se ha preparado Hibridación in situ.⁶

El desarrollo de técnicas cada vez más sensibles, basadas en el uso de la PCR y de anticuerpos monoclonales resulta esencial para este fin. Los Anticuerpos son unas proteínas llamadas inmunoglobulinas que son producidas por los linfocitos B de la sangre. Se originan como una respuesta de defensa del sistema inmune ante la presencia de una molécula (proteína, azúcar, etc) que se denomina antígeno y que no está presente en el organismo. Los anticuerpos tienen la propiedad de unirse específicamente al antígeno y bloquearlo. Distintos linfocitos B (clones) pueden producir anticuerpos distintos que puede unirse a diferentes partes del mismo antígeno; la inmunoglobulina producida por un solo linfocito B (clon), y que posee la capacidad de reconocer a un único determinante antigénico se le denomina anticuerpo monoclonal (de un clon). Por ello, al conjunto de las distintas inmunoglobulinas que se producen como respuesta contra un antígeno complejo se les denomina anticuerpos policlonales (de muchos clones).

Estos últimos se obtienen de forma muy sencilla a partir de la sangre de animales inmunizados con un antígeno. Sin embargo, los monoclonales se producen en el laboratorio a partir de unas células inmortalizadas denominadas hibridomas, que surgen de la fusión de linfocitos B de un animal inmunizado con células de mieloma (una célula tumoral de ratón). Las células de los hibridomas pueden cultivarse en fermentadores y producir anticuerpos muy específicos contra un antígeno en grandes cantidades.

los anticuerpos monoclonales se utilizan para desarrollar métodos de análisis muy sensibles y precisos que permiten detectar la presencia de estos antígenos en mezclas complejas de sustancias y células, Por ello, los anticuerpos monoclonales se usan ampliamente para el diagnóstico clínico para poder medir hormonas, diagnosticar virus.

La PCR o reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction), es un procedimiento que sirve para obtener de forma sencilla y rápida millones de copias de un fragmento de material genético (DNA o RNA).⁷

Importancia de la Ingeniería Genética

La Biotecnología aporta nuevas herramientas diagnósticas que son especialmente útiles. Hasta hace muy poco tiempo todos los métodos se basaban en el cultivo microbiológico, la tinción histológica, o las pruebas químicas y determinaciones en suero, métodos en general largos y tediosos que requerían mucha mano de obra y eran muy difíciles de automatizar. El desarrollo de los inmunodiagnósticos con los anticuerpos monoclonales y de las técnicas que analizan el material genético como la hibridación y secuenciación del DNA o RNA con la ayuda inestimable de la PCR han sido un logro biotecnológico decisivo para introducir el concepto del diagnóstico rápido, sensible y preciso. Si además se tiene en cuenta que esta metodología permite su robotización y automatización el futuro del diagnóstico molecular y genético es muy esperanzador.

Es por ello que conocer que es la biotecnología y su rama que es la ingeniería genética es de gran importancia para los estudiantes de biotecnología y para todo el campo de ciencias de la salud, ya que durante los últimos 10 años, la comunidad internacional se ha visto conmovida por los anuncios de espectaculares avances en el campo de la biología molecular, centrados, en el ámbito de la genética. Lo que hasta entonces parecía ser un territorio desconocido para el hombre, la clave del misterio mismo de la vida, de a poco comenzó a ser descubierto.⁸

Hibridación in situ Fluorescente es una técnica que detecta secuencias de ácidos nucleicos en células o tejidos preservados mediante el empleo de una sonda marcada con un fluorocromo, la cual va dirigida hacia un lugar específico del cromosoma y que emite fluorescencia que puede ser observada por medio de un microscopio. La técnica de hibridación in situ se fundamenta en la capacidad que poseen los ácidos nucleicos para hibridarse entre sí, es decir, la existencia de determinada secuencia de ADN o ARN. Los métodos tradicionales de identificación microbiana basados en medios de cultivo en muchos casos requieren de tiempos largos de incubación y en ocasiones se deben emplear medios selectivos complejos, especialmente cuando se pretende aislar bacterias de difícil crecimiento, además, estos métodos no reflejan la población exacta o la mezcla de las comunidades bacterianas presentes en el microhábitat. Por su parte, la identificación empleando la técnica de FISH combina la precisión de la genética molecular con la información visual de la microscopía, lo cual permite la identificación

y visualización de la célula microbiana individual dentro de su microhábitat natural o tejido en el que se encuentre presente. Desde sus primeras aplicaciones la técnica de FISH se ha empleado en una gran cantidad de estudios tendientes a identificar microorganismos presentes en muestras tanto ambientales como clínicas.

Un protocolo de la técnica de FISH incluye 4 pasos (figura 1): (i) fijación y permeabilización de la muestra, (ii) hibridación, (iii) lavado y (iv) la detección de las células marcadas a través del microscopio de epifluorescencia o confocal (6). Antes de la hibridación, el cultivo, la muestra o tejido que contiene microorganismos deben ser fijados y permeabilizados para facilitar la penetración de la sonda fluorescente dentro de la célula y para proteger al ARN de la degradación por ribonucleasas endógenas. La hibridación es el proceso en el que a la muestra desnaturalizada se le añade la sonda de interés que se unirá a la secuencia escogida del ARNr. Pasado el tiempo de hibridación, las láminas son lavadas con agua destilada para remover la sonda que no se unió. Finalmente, se realiza la visualización de la muestra, la cual requiere de un microscopio de epifluorescencia equipado con diversos filtros para los diversos espectros de color.⁶

CONCLUSIONES

La ingeniería genética es un nuevo campo científico que tiene la capacidad de manipular genéticamente la composición característica de ADN que constituye específicamente una planta, un animal y hasta el ser humano. Esta poco convencional rama de la genética se ve orientada hacia dos campos muy concretos como lo son: La industria (con el mejoramiento agrícola con respecto a los cultivos transgénicos) y el campo médico (con la manipulación y cambio del genoma humano para curar y/o prevenir enfermedades)

-Las modificaciones que realiza la ingeniería genética mediante técnicas innovadoras se refieren primordialmente a la alteración microscópica del material genético, donde se introducen, extraen, o duplican partes o complejos del mismo, lo que se denomina intervención artificial extranjera.

-Los resultados de la ingeniería genética son desarrollados principalmente para la mejora animal, vegetal y humana por medio de la obtención de virus, hongos, bacterias, entre otros microorganismos.

-Una de las grandes y beneficio de la ingeniería genética es que a través de sus técnicas se puede implantar “terapias” genéticas que estarían acercando a la humanidad al elixir de la vida o mejor dichos la posible cura eficaz para la mayoría de las enfermedades que atacan a los seres vivos.

-El tratamiento genético podría llegar a curar enfermedades hereditarias, como la hemofilia o la fibrosis quística, causadas por genes ausentes o defectuosos. Una técnica de este tipo consiste en utilizar virus modificados genéticamente para insertar genes nuevos funcionales en las células de pacientes incapaces de segregar hormonas o proteínas necesarias para el normal funcionamiento del organismo.

-Otra técnica beneficiosa que se deriva de la ingeniería genética es la clonación, que supone la extracción del núcleo de un óvulo para sustituirlo por el núcleo de otro animal de la misma especie. Después, ese óvulo se implanta en el útero de otro animal y, de esta manera, se obtiene un animal genéticamente idéntico al organismo del que se había obtenido el núcleo original.¹⁰

-Pero no todo en la Ingeniería genética resulta bien, ya que en algunos casos las modificaciones pueden resultar perjudiciales para el “tratado”, entonces desde este punto comienza el conflicto para saber cómo reaccionar frente a este escollo que podría frenar la maravilla que llegaría a ser esta nueva ciencia.³

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Tresguerres, J. Biotecnología aplicada a la medicina, Editorial Diaz de Santos año 2003
2. Casal, I. Biotecnología y Salud. Editado por Sebiot Año 2000 Disponible en http://www.monsanto.com/global/es/noticias-y-opiniones/documents/otras_publicaciones/sebiot_2.pdf
3. Limon, J. Titulo Genética
4. Luque, J. Herraez, A. Biología molecular e ingeniería genética, Editorial El Sevier 2006
Disponible en: <http://genetica.tripod.com/>
5. Limon, J Aplicaciones en la ingeniería genética
<https://aplicaciones-ingenieria-genetica.wikispaces.com/Aplicaciones+en+medicina>
6. Dr. Juan Bueren y Dr. José Luis Motellón. Curso de biotecnología aplicada, 7ma ed.Madrid 2007
7. Aplicaciones en la ingeniería genética
<https://aplicaciones-ingenieria-genetica.wikispaces.com/Aplicaciones+en+medicina>
8. Rodriguez, R. Empleo de la técnica hibridación in situ fluorescente para visualizar microorganismos 2011 Disponible:
<http://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/2572/3184>
9. Garcia, J. Patología Molecular 2007 Disponible
<http://patmol.blogspot.com/2008/08/laboratorio-de-patologa-molecular.html>