

544



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

TRASFERENCIA
Y
TERAPIA GÉNICA

TESINA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA
PRESENTA
RAFAEL VELÁZQUEZ MURILLO

DIRECTORA: CAROLINA ROJAS CASTAÑEDA
ASESORA: M.O. BEATRIZ C. ALDAPE BARRIOS



MÉXICO, D.F.

2001

Logo
Handwritten signature



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Agradezco al Dios todo poderoso por proveerme con lo más preciado y hermoso que he tenido en la vida, **Mi familia**

PADRES

Catalina Munillo y Alfredo Velázquez

Gracias, por darme la vida, todo su cariño, apoyo y gran ayuda durante toda mi vida, Los quiero con todo mi corazón.

A mis hermanos quienes son parte de mí y quiero mucho, gracias por soportarme.

Alfredo, Lidia, Argelia, Eduardo y mi querido sobrino Carlos

A mis mejores amigos y a la vez familia adoptiva Deborah y Max Andrew Kerr, por todo su apoyo y cariño.

Connie Book

Por su apoyo emocional y amistad sincera



Doy gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme el desarrollo profesional y personal.

Dra. Carolina Rojas Castañeda, Dra. Beatriz Aldape Barnos, Dr. Bernardo y Dr. Daniel Quezada Rivera por todo su apoyo, enseñanza e increíble amabilidad y paciencia.

A mi compañero de la Facultad de Odontología
Torres López Fernando

A mis compañeros del Seminario de titulación por su amistad y ayuda incondicional

A todas las personas que tuvieron que ver de alguna forma en el proceso de hacer de mí una mejor persona.

Gracias.



INDICE

GENERALIDADES DE GENÉTICA	2
ANTECEDENTES	3
GENÉTICA	4
CROMOSOMAS	4
DNA	4
DIVISIÓN CELULAR NORMAL	5
MITOSIS	5
PROYECTO GENOMA HUMANO	6
CLONACIÓN DEL DNA	6
GENOMA HUMANO Y SU APLICACIÓN EN LA MEDICINA	6
TRASFERENCIA Y TERAPIA GÉNICA	7
COMO FUNCIONA LA TERAPIA GÉNICA	8
METODO VIRAL Y NO VIRAL (FÍSICO) EN TRASFERENCIA GÉNICA	9
VEHÍCULOS O VECTORES VIRALES	9
RETROVIRUS	9
ADENOVIRUS	11
VIRUS ADENOASOCIADO	13
VEHÍCULO O VECTOR NO-VIRAL O FÍSICO	13
VECTOR IDEAL	15
DURACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GENE	15
CÉLULAS BLANCO O DIANA	16
TÉCNICAS PARA LA TRASFERENCIA DE GENES	16
ANIMALES TRANSGÉNICOS	18
MÉTODOS DE TRASFERENCIA GÉNICA <i>"in vitro"</i>	18



ESTRATEGIA " <i>in vivo</i> "	20
TÉCNICA " <i>in situ</i> "	22
TÉCNICA PCR	22
DIAGNÓSTICO GENÉTICO	23
APLICACIÓN DE LA TERAPIA GÉNICA EN LA ODONTOLOGÍA	24
GLÁNDULAS SALIVALES COMO BLANCO EN LA TERAPIA GÉNICA	24
TERAPIA GÉNICA EN CANCER EN CANCER BUCAL	26
CAMBIOS GÉNICOS EN CANCER BUCAL	26
ANORMALIDADES DEL GEN P53	26
VIRUS PAPILOMA HUMANO	26
TRASFERENCIA GÉNICA EN QUERATINOCITOS DE LA MUCOSA BUCAL	28
GENES SUICIDAS	28
VECTORES	29
PROMOTORES	29
EL FUTURO DE LA TERAPIA GÉNICA EN LA PRACTICA DENTAL DEL SIGLO XXI	30
CONCLUSIONES	31
GLOSARIO	32
REFERENCIAS	34



INTRODUCCIÓN

La transferencia y terapia génica son términos que han aparecido con gran frecuencia tanto en la literatura popular como científica, usado para referirse a cualquier aplicación de la transferencia de un gen extraño.

Inicialmente, la terapia génica era asociada ya fuera con desordenes genéticos heredados o para el tratamiento de condiciones que amenazan la vida y aprobándose numerosas pruebas o ensayos para la terapia génica humana ¹

Padecimientos tales como Deficiencia Inmune Combinada Severa (SCID), SIDA, Melanomas malignos, varios Carcinomas, Hipercolesterolemia y tumores cerebrales entre otros

El Cirujano Dentista practicante se verá beneficiado al obtener un entendimiento general de lo que la Terapia Génica significa y así como los ejemplos expuestos de cómo esta nueva Ciencia esta siendo aplicada en la medicina bucal y dental de hoy ²

El Cirujano Dentista debe reconocer la importancia de los cambios de la biología Genética que se están dando en nuestro tiempo.

Se tiene la esperanza de que la terapia genética será una herramienta integral en el cuidado de la salud bucal y práctica dental.

Sin embargo para que los dentistas sean capaces de usar tales técnicas y mantenerlos como proveedores de la llave del cuidado de la salud bucal.

Se debe entender la biología genética y aplicación como terapia a nivel practico, en la lucha contra estas enfermedades que nos afectan.

Se espera que él presente estudio sea de utilidad para los clínicos al obtener un panorama general de las nuevas técnicas que está en fase experimental pero que algún día serán usados para el cuidado y bienestar de todo ser humano acrecentando su deseo y posibilidades de vivir más y saludablemente.



GENERALIDADES DE GENÉTICA

Con el descubrimiento de las leyes de Mendel (1822-1884), se ha pasado del análisis de la segregación de las características fenotípicas en los árboles genealógicos, al conocimiento de la secuencia de los 3500 millones de bases nitrogenadas que conforman nuestra individualidad genética.³

Mendel definió al gen como el elemento unitario donde reside la información genética para una determinada característica.⁴

La fecundación se da por dos células especializadas y complementarias llamadas gametos: Un microgameto móvil llamado **espermatozoide** y un macrogameto denominado **ovulo**, el conjunto de células y organismos derivados de una sola célula ancestral por reproducción vegetativa, se denomina "**clon**" compartiendo las mismas características hereditarias.⁵

Entre los humanos existen clones de forma natural, son los gemelos idénticos y los hay "monocigóticos que se dividen de un solo cigoto y dicigóticos que se dividen de dos cigotos diferentes."

Cigoto: célula resultante de la unión de los gametos femenino y masculino, hasta su división⁶.



ANTECEDENTES

1969	Miescher	Aislamiento del DNA
1944	Avery	El DNA es el portador de la información genética
1953	Watson y Crick	Estructura helicoidal del DNA
1957	Kornberg	DNA polimerasa
1962	Arber	Primera evidencia sobre enzimas de restricción
1966	Nirenberg, Ochoa, Khorana	Código genético
1972	Boyer, Cohen, Berg	Técnicas clonación del DNA
1975	Songer, Barrell y Maxam, Gilbert	Métodos de secuenciación
1981	Palmiter y Brinster	Ratones transgénicos
1990	Blaese, Anderson, Culver	Terapia Génica Humana



GENÉTICA

Es la ciencia encargada de estudiar la herencia, la expresión de los rasgos heredados y los genes los cuales a su vez son entidades biológicas en las que se transmiten un carácter de los padres a los hijos, pudiendo expresarse los genes de dos diferentes maneras en los hijos porque vienen de dos cigotos más no por replica de sus padres.^{5,7}

Hay manifestaciones clínicas de algunos de estos desordenes bucales heredados como lo es un síndrome el cual es una asociación de signos y síntomas (el SIDA es un síndrome adquirido no heredado), que aparecen juntos en el mismo paciente.⁷

La unión de todos los genes se le conoce como **genotipo** y los rasgos fisiológicos, bioquímicos y físicos o características así observables **fenotipo**.^{5,7}

CROMOSOMAS

Las unidades hereditarias que son transmitidas de una generación a otra son los genes, que pueden ser encontrados en los cromosomas, los cuales están localizados en el núcleo de la célula los cuales son observables únicamente cuando esta última está dividiéndose.

Cada célula del cuerpo humano, con la excepción de las células germinales maduras ovulo y espermatozoide, contiene 46 cromosomas y la mitad de estas provienen del padre y la otra mitad de la madre.

DNA

El ácido desoxirribonucleico es una sustancia compuesta de una doble cadena de poli nucleótidos, ambas cadenas giran alrededor de un eje formando una doble hélice; es el código genético básico para la formación de aminoácidos.



Los cromosomas contienen DNA, el cual dirige la producción de aminoácidos, proteínas y polipéptidos para la célula, además es autoreplicable creando copias exactas de la misma formando células idénticas a la original.⁷

La **mutación** de un gen se da cuando un gen proporciona un rasgo típico de una raza y llega otro gen que lo cambia por otra característica.⁸

DIVISIÓN CELULAR NORMAL

Todas las células del cuerpo, con la excepción de las germinales son llamadas células somáticas y la división celular es llevada a cabo en la mitosis el cual es un ciclo de vida.⁷

En la mitosis se crean copias exactas de los cromosomas para que en la división se de un juego idéntico a las células hijas.⁷

CARIOCINESIS O MITOSIS

Es el proceso por el cual se divide la célula. La mitosis se divide en **Profase**, **Metafase**, **Anafase** y **Telofase**, el periodo entre dos mitosis sucesivas se le llama **Interfase**, en la que se ve cromatina la cual contiene el material genético y que después se dividirá.

En la **metafase** los cromosomas se arreglan simétricamente a ambos lados del centro celular adoptando la forma de una X con un par de brazos largos (Q), y un par de brazos cortos (P) y cada cromosoma varía de tamaño.

Hay una **constricción** uniendo los brazos del cromosoma llamado **centromero** el cual es compartido por cada una de las dos mitades verticales del cromosoma llamadas **cromátides**



Cada cromátide tiene una molécula de DNA por lo tanto el contenido de esta molécula es doblada por lo que al comenzar la división cada cromosoma se esparce verticalmente desde el centromero, y 46 cromátides (las cuales son cromosomas) forman una célula hija.

En la **Profase**, los cromosomas se alinean para la **Metafase**; en la **Anafase** y **Telofase**, los cromosomas están en el proceso de esparcimiento.⁷

La interfase que ocurre después de completarse cada división celular y antes de la siguiente se subdivide en **G1**, la cual es seguida por la **fase S** o **Fase de síntesis** de la cromatina y **G2** después de la duplicación de la cromatina, al final de esta la cromatina se condensa constando de varios segmentos llamándose así **Cromosoma** que ya es visible con membrana nuclear intacta y con el nucleolo visible en la profase.

Cariotipo Es la representación cromosómica de un individuo.⁵

PROYECTO GENOMA HUMANO

Hace diez años se dio el inicio de la tarea de establecer el orden preciso de las unidades químicas que componen el DNA del ser humano, conocida como el Proyecto genoma Humano que llenará volúmenes de 1000 páginas por lo que es necesario identificarlos y saber cual es su función para su aplicación en la terapia génica.⁹

Clonación del DNA

Es una técnica que permite tener muchas copias idénticas de un fragmento de DNA, en la que se unen dos moléculas de DNA de origen muy diferente en una sola llegando a ser así una **Molécula de DNA recombinante** o **DNA híbrido** o **Quimera**¹

GENOMA HUMANO Y SU APLICACIÓN EN LA MEDICINA

Desde el siglo pasado, la industria farmacéutica ha dependido enormemente sobre un limitado juego de medicamentos para desarrollar nuevas terapias, pero ya un nuevo compendio enlista 483 drogas blanco.²⁵



Cada cromátide tiene una molécula de DNA por lo tanto el contenido de esta molécula es doblada por lo que al comenzar la división cada cromosoma se esparce verticalmente desde el centromero, y 46 cromátides (las cuales son cromosomas) forman una célula hija.

En la **Profase**, los cromosomas se alinean para la **Metafase**; en la **Anafase** y **Telofase**, los cromosomas están en el proceso de esparcimiento.⁷

La interfase que ocurre después de completarse cada división celular y antes de la siguiente se subdivide en G1, la cual es seguida por la **fase S** o **Fase de síntesis** de la cromatina y G2 después de la duplicación de la cromatina, al final de esta la cromatina se condensa constando de varios segmentos llamándose así **Cromosoma** que ya es visible con membrana nuclear intacta y con el nucleolo visible en la profase.

Cariotipo Es la representación cromosómica de un individuo⁵

PROYECTO GENOMA HUMANO

Hace diez años se dio el inicio de la tarea de establecer el orden preciso de las unidades químicas que componen el DNA del ser humano, conocida como el Proyecto genoma Humano que llenará volúmenes de 1000 páginas por lo que es necesario identificarlos y saber cual es su función para su aplicación en la terapia génica.⁹

Clonación del DNA

Es una técnica que permite tener muchas copias idénticas de un fragmento de DNA, en la que se unen dos moléculas de DNA de origen muy diferente en una sola llegando a ser así una **Molécula de DNA recombinante** o **DNA híbrido** o **Quimera**¹

GENOMA HUMANO Y SU APLICACIÓN EN LA MEDICINA

Desde el siglo pasado, la industria farmacéutica ha dependido enormemente sobre un limitado juego de medicamentos para desarrollar nuevas terapias, pero ya un nuevo compendio enlista 483 drogas blanco.²⁵



Esta proteína fue la somatotatina, un neurotransmisor de 14 aminoácidos, el gen que DNA se produjo una proteína humana por primera vez por técnicas de DNA recombinante codificaba para esta hormona no fue el gene natural, sino uno sintetizado químicamente que fue clonado en un derivado de un Plásmido.

Después fue posible la elaboración de insulina para los diabéticos que pueden usar esta hormona humana recombinante y ya no la porcina o bovina.

La Terapia Génica consiste en introducir el gen en células somáticas de la persona portadora del **alelo** mutante productor de la anomalía.

Alelos: son los genes que estan localizados en el mismo nivel de los dos cromosomas de un par y que determina las mismas funciones o características.

Se prefieren así las células de la médula osea, ya que se extraen del enfermo, manipuladas *In vitro* o fuera del cuerpo en el laboratorio y reinsertadas con el gen adquirido deseado para ser expresado, después esas células se multiplicarán por ellas mismas en el paciente.

El vector más usado hasta ahora es el retrovirus en los animales.

TRANSFERENCIA Y TERAPIA GÉNICA

La Terapia Génica, es la selección y administración de los genes en las células del ser humano dotados de una nueva función o propiedad y que pueden ayudar a la cura o la respuesta inmune ante los diferentes padecimientos adquiridos como es el caso para el tratamiento de pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana, causante del SIDA, tratando de introducir en las células sanguíneas del paciente copias de un gen que obstaculiza la replicación del virus, frenando así el progreso de la enfermedad.¹⁰

También dirigidos a los padecimientos heredados que nos aquejan debido al mal funcionamiento de algunos genes



Esta proteína fue la somatotina, un neurotransmisor de 14 aminoácidos, el gen que DNA se produjo una proteína humana por primera vez por técnicas de DNA recombinante codificaba para esta hormona no fue el gene natural, sino uno sintetizado químicamente que fue clonado en un derivado de un Plásmido.

Después fue posible la elaboración de insulina para los diabéticos que pueden usar esta hormona humana recombinante y ya no la porcina o bovina.

La Terapia Génica consiste en introducir el gen en células somáticas de la persona portadora del alelo mutante productor de la anomalía.

Alelos: son los genes que estan localizados en el mismo nivel de los dos cromosomas de un par y que determina las mismas funciones o características.

Se prefieren así las células de la médula osea, ya que se extraen del enfermo, manipuladas *In vitro* o fuera del cuerpo en el laboratorio y reinsertadas con el gen adquirido deseado para ser expresado, después esas células se multiplicarán por ellas mismas en el paciente.

El vector más usado hasta ahora es el retrovirus en los animales.

TRANSFERENCIA Y TERAPIA GÉNICA

La Terapia Génica, es la selección y administración de los genes en las células del ser humano dotados de una nueva función o propiedad y que pueden ayudar a la cura o la respuesta inmune ante los diferentes padecimientos adquiridos como es el caso para el tratamiento de pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana, causante del SIDA, tratando de introducir en las células sanguíneas del paciente copias de un gen que obstaculiza la replicación del virus, frenando así el progreso de la enfermedad.¹⁰

También dirigidos a los padecimientos heredados que nos aquejan debido al mal funcionamiento de algunos genes



Esto se ve en la armonía con la que los genes aumentan las proteínas que son las que hacen que la célula trabaje apropiadamente por lo que cuando algún gen esta defectuoso, causa que las células produzcan la cantidad inapropiada de proteína

Por ejemplo: Las células del hígado producen proteína que ayudan a las artenas a liberarse del colesterol, si este gen falla habrá como consecuencia Arteriosclerosis.¹¹

COMO FUNCIONA LA TERAPIA GÉNICA

Los virus tienen la propiedad de introducir el DNA en las células, antes claro debemos quitarle al virus su capacidad de dar genes que producen proteínas que con las cuales la célula enferma y muere Poniendo mejor aún el gen corrector en su lugar sin causar enfermedad.

Siendo así posible desarrollar genes para prevenir enfermedades que de antemano se sabe aparecerán en un futuro en el paciente, evitándole a este que se encare a su destino con un gen corrector de tal anomalía.

La terapia génica se puede llevar a cabo en células somáticas terapia, o en células de la línea germinal como espermatozoides, óvulos o las células que las originan pueden ser transmitidos a las generaciones posteriores estas últimas.¹⁰

Una de las formas de transmitir un gen es la inyección del gen corrector directamente en la corriente sanguínea del paciente, esperando buenos resultados reabasteciendo de células sanguíneas como se necesiten.

Las células de la medula osea parecen ser blancos perfectos para la terapia génica debido a que parecen ser inmortales pues viven tanto como el paciente viva. Por lo tanto constituyen un reservorio permanente para la inserción de genes.¹²



MÉTODO VIRAL Y NO-VIRAL (FÍSICOS) EN TRASFERENCIA GENÉTICA

Un vector es un vehículo usado para introducir el gene dentro de la célula blanco o diana.¹¹

VECTORES VIRALES

También llamados vehículos virales y hay dos tipos de vectores para la transferencia de genes dentro de una célula y son los virales y los no virales los primeros son efectivos como transmisores de genes llevando el DNA exógeno que contiene, razón por lo que son los más usados¹³.

Virus Vector Son los que introducen el DNA en la bacteria sin causar la lisis de esta.

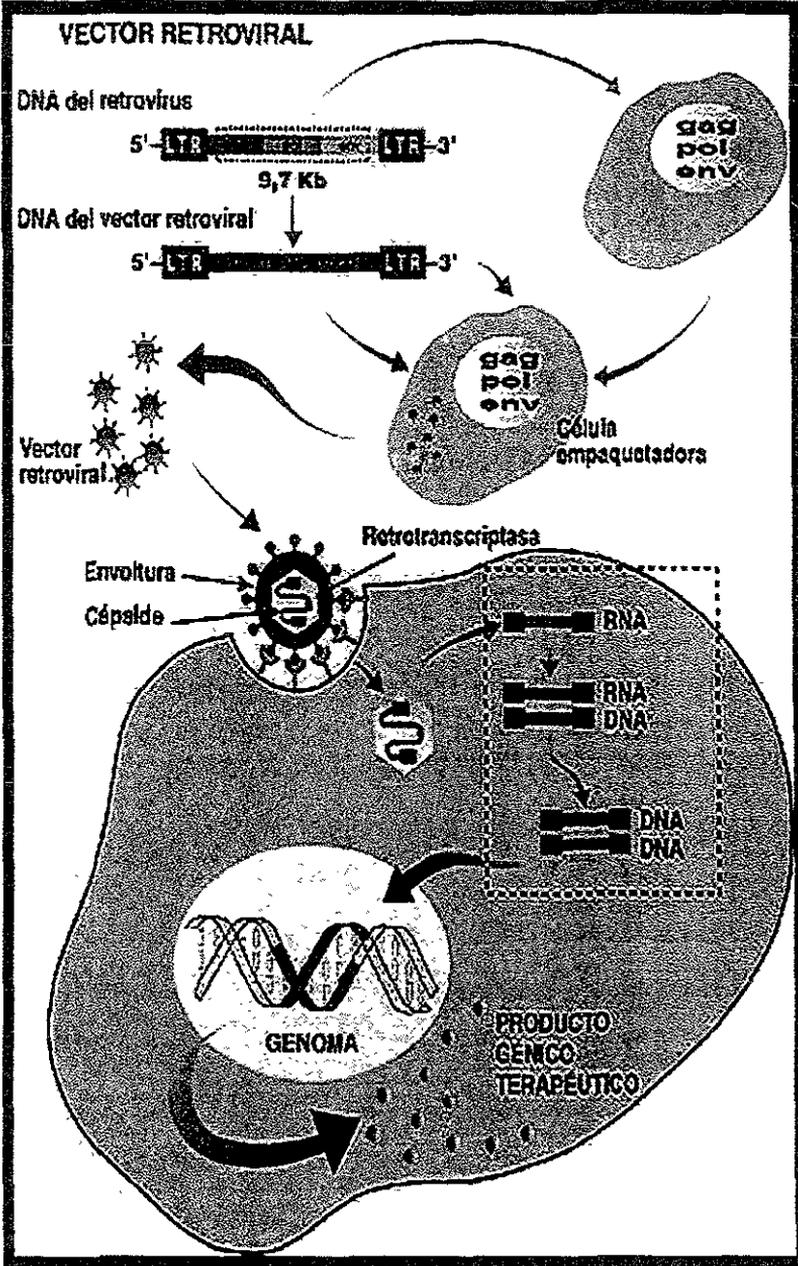
También tenemos vectores no-virales, los cuales están basados en DNA Plásmido producido en una bacteria y a menudo compuesto por lípidos¹¹

Para transferir un gen dentro de una célula es necesario un vector o vehículo ya mencionados para introducirlo en la célula.

Retrovirus

Los retrovirus son virus cuyo genoma está constituido por una cadena simple de RNA (ácido ribonucleico) y que lo replican mediante la formación de una cadena doble de DNA como intermedio y que al infectar la célula estos vectores retrovirales pierden su capacidad de replicación al ser eliminadas de estas las secuencias que le confieren su capacidad de destrucción para la célula, poniendo en su lugar el gene que deseamos sea expresado.⁴

Por otro lado estos retrovirus infectan solo células que se dividen, integrando el DNA extraño dentro del cromosoma de esa célula huésped, la inserción del gen no esta absolutamente controlada sino que puede ocurrir mutación, esta técnica se ha usado invitro, osea en células sacadas fuera del cuerpo temporalmente como son las células sanguíneas, que una vez infectadas deben regresarse al cuerpo del paciente para cumplir su función.¹⁴





Adenovirus

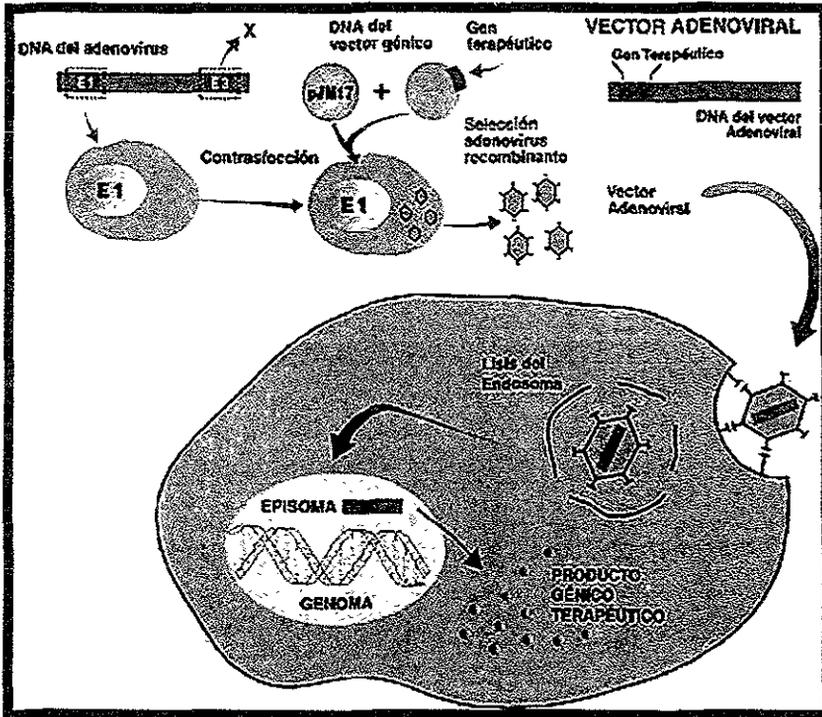
Los Adenovirus son virus cuyo genoma está constituido por una doble cadena lineal de DNA exclusivamente.

La localización en donde se encuentran los genes que le confieren la capacidad del genoma adenoviral para dirigir la producción de Adenovirus es reemplazada por otro gene terapéutico, eliminando los anteriores y uniéndose posteriormente a la célula por sus receptores específicos ya una vez en el endosoma se produce la lisis del mismo.⁴

El DNA viral conteniendo el gen terapéutico es liberado al citoplasma pues no es integrado en el genoma de la célula, desde donde alcanza el núcleo y donde permanece como un DNA extracromosómico **episoma** dirigiendo la expresión del gen terapéutico^{4, 15}



VECTOR ADENOVIRAL





Estos infectan tanto a células que se dividen como a las que no, integran el DNA extraño dentro de la célula dentro del genoma de la célula huésped, la expresión es temporal, mientras la célula se divide, el número de células conteniendo el gen extraño va disminuyendo, aparte los virus pueden ser criados en alta concentración suficiente para infectar un tejido blanco "*in vivo*"^{14, 15}

Virus Adenoasociado

El virus adenoasociado es otro agente potencial que transfiere genes el cual contiene únicamente una hélice de DNA genómico y que es además el más pequeño de los tres vectores mencionados ya, por lo que tiene un límite en la cantidad de DNA que uno puede poner dentro de este, cuando mucho la mitad del gen extraño que los otros dos.^{15 y 16}

Este puede integrar el nuevo gen dentro del genoma de la célula huésped, pero desafortunadamente es algo infrecuente, por si lo logra hacer, el DNA es mantenido por largo tiempo.

Por otra parte este no se vale de un RNA intermediario.¹⁶

VEHÍCULO O VECTOR NO VIRAL O FÍSICO

Estos presentan un gran atractivo como sistemas de repartición de los genes debido a su enorme seguridad.

Generalmente, sin embargo, son considerados mecanismos mucho menos eficientes para la transferencia genética y los enlistamos como liposomas que son esencialmente bolsas de lípidos conteniendo DNA y la conjugación macromolecular que es DNA cargada negativamente la cual se une a una molécula cargada negativamente y que es relacionada a un área de la célula.¹⁵

Estos métodos físicos pueden transferir genes muy grandes, pero la expresión de estos es temporal aunque por otro lado tienen un potencial mucho muy bajo para desencadenar una reacción inflamatoria o reacción inmune en contra de ellos, si se les compara con los virus, especialmente el Adenovirus.¹⁵



También casi no hay riesgo de que ocurra una mutación por lo que la repetida administración de genes mediante estos es muy conveniente.¹⁵

La introducción del gen normal se puede realizar por los siguientes medios físicos, químicos o virus como vectores.

Métodos físicos

- Microinyección
- Electroporación
- Microproyectiles

Métodos químicos

- Fosfato cálcico
- Policationes
- Lípidos
- Liposomas
- Membranas derivadas de eritrocitos

Vectores virales

- Retrovirus
- Adenovirus o virus asociados (AAV)
- Herpetovirus¹⁰



Plásmido Es una molécula circular de DNA autoreplicativa.⁸

VECTOR IDEAL

Aunque las prioridades del vector ideal pueden variar, en todos los casos el vector desempeña una importante función en el éxito del proceso completo de la terapia génica, cuyas principales etapas son: destino, entrega y expresión del gen.

las principales características deseables en un vector son:

- a).- Poder ser destinado con la mayor especificidad celular posible a un órgano o tejido.
- b).- Proteja al DNA de posibles degradaciones enzimáticas durante su transporte.
- c).- Facilite la entrega del gen terapéutico a la célula con una elevada biodisponibilidad.
- d).- Permita la expresión del gen con eficacia
- e) - No sea reconocido por el sistema inmunitario ni despierte respuestas inflamatorias
- f).- Sea seguro para el paciente y su entorno.⁴

DURACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GENE

El tiempo durante el cual un gene que ya se encuentra introducido en el núcleo celular se expresa es variable y depende del tejido, ya que muy a menudo es corto, como por ejemplo los vectores no virales entre ellas el Plásmido da una respuesta máxima por pocos días.

Otros vectores adenovirales por solo dos o tres semanas en contraste con el vector viral adenoasociado puede no responder en semanas pero si permanece constante en algunos tejidos por varios meses.¹¹

Una de las desventajas de estas técnicas "*in situ*" (que es cuando el DNA o los genes terapéuticos se introducen directamente en el órgano del individuo), e "*in vitro*" (corrección del defecto genético en el laboratorio en las células extraídas del paciente y reinsertadas en el posteriormente) es que las células alteradas raramente son inmortales y por lo tanto los genes correctores mueren cuando la célula que la tiene alojada muere o finalmente por casualidad podrían insertarse ellas mismas en los cromosomas¹⁰.



Tal inserción en los cromosomas, podría tener serias consecuencias, como por ejemplo, si los genes correctores alteran los genes supresores de los tumores, los cuales normalmente protegen el cuerpo en contra de estas malignidades, entonces el resultado podría ser un cáncer.¹²

CÉLULAS BLANCO O DIANA

Aunque los virus utilizados pueden infectar muchos tipos de células, solamente algunas son diana o candidatas para la manipulación genética.

1.- las células deben ser lo suficientemente fuertes para resistir la manipulación y susceptibles de ser extraídas del organismo humano y reintroducidas en él con facilidad;

2.- las células deben tener una larga vida meses, años o, mejor aún, toda la vida del paciente.

Puesto que las células de la médula osea de la piel y del hígado son las que más se ajustan a estos criterios, no cabe duda que las enfermedades que pueden ser tratadas por manipulación de estas células son las más firmes candidatas para la terapia génica.¹⁰

TÉCNICAS PARA TRASFERENCIA DE GENES

Hay dos métodos generales para transferir genes dentro de la célula los cuales son virales y los físicos o no-virales.¹⁵

ANIMALES TRANSGÉNICOS

La mayoría de los experimentos de transferencia y terapia génica se llevan a cabo en animales de laboratorio tales como vacas, borregos, puercos, pollos y más comúnmente ratones, con una inyección de DNA en estos, y el procedimiento se realiza como sigue^{8,17}.



Tal inserción en los cromosomas, podría tener serias consecuencias, como por ejemplo, si los genes correctores alteran los genes supresores de los tumores, los cuales normalmente protegen el cuerpo en contra de estas malignidades, entonces el resultado podría ser un cancer.¹²

CÉLULAS BLANCO O DIANA

Aunque los virus utilizados pueden infectar muchos tipos de células, solamente algunas son diana o candidatas para la manipulación genética.

1.- las células deben ser lo suficientemente fuertes para resistir la manipulación y susceptibles de ser extraídas del organismo humano y reintroducidas en él con facilidad;

2.- las células deben tener una larga vida meses, años o, mejor aún, toda la vida del paciente.

Puesto que las células de la médula osea de la piel y del hígado son las que más se ajustan a estos criterios, no cabe duda que las enfermedades que pueden ser tratadas por manipulación de estas células son las más firmes candidatas para la terapia génica.¹⁰

TÉCNICAS PARA TRASFERENCIA DE GENES

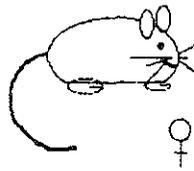
Hay dos métodos generales para transferir genes dentro de la célula los cuales son virales y los físicos o no-virales.¹⁵

ANIMALES TRANSGÉNICOS

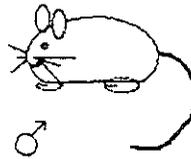
La mayoría de los experimentos de transferencia y terapia génica se llevan a cabo en animales de laboratorio tales como vacas, borregos, puercos, pollos y más comúnmente ratones, con una inyección de DNA en estos, y el procedimiento se realiza como sigue^{8,17}.



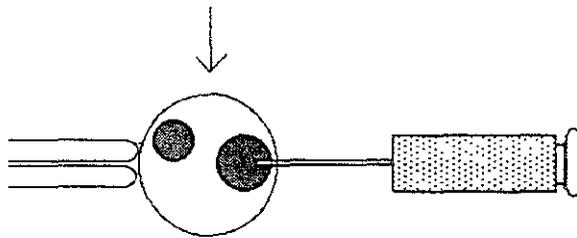
8



Madre donante de los embriones



Padre que aporta el gameto masculino



Pipeta con la que se succiona el embrión para sujetarlo mientras se inyecta

Embrión que muestra los dos pronúcleos

Microjeringa que contiene numerosas copias del DNA exógeno con el que se quiere transformar el núcleo del ratón



Los embriones inyectados se transfieren quirúrgicamente a una hembra «pseudogestante» preparada con hormonas

Los ratones que nazcan de esta «madre alquiler» se prueban para ver si son portadores del gen transferido

Obtención de ratones transgénicos.



Se preparan hembras sometidas a tratamiento hormonal, dejando que el macho las fecunde y a las pocas horas son sacrificadas para retirar de estas los embriones los cuales por su transparencia son fáciles de observar, e inyectados con el DNA extraño con uno o varios genes dentro del núcleo del embrión, para luego ser transportados a otras hembras tratadas hormonalmente para que no sean rechazados, y al nacer se comprobará si son portadores de los genes.³

La alteración genética "*in vitro*" de linfocitos o de células de la médula osea intenta corregir el defecto en las propias células tratadas o en sus descendientes **linaje celular**.

Otros métodos alternativos que se están ensayando son, por ejemplo: curar la distrofia muscular o inhalar mediante pulverización con aerosol, virus o liposomas portadores de genes normales que, una vez dentro de las células de los pulmones, permitan curar la fibrosis quística.⁴

MÉTODOS DE TRANSFERENCIA GÉNICA "*in vitro*"

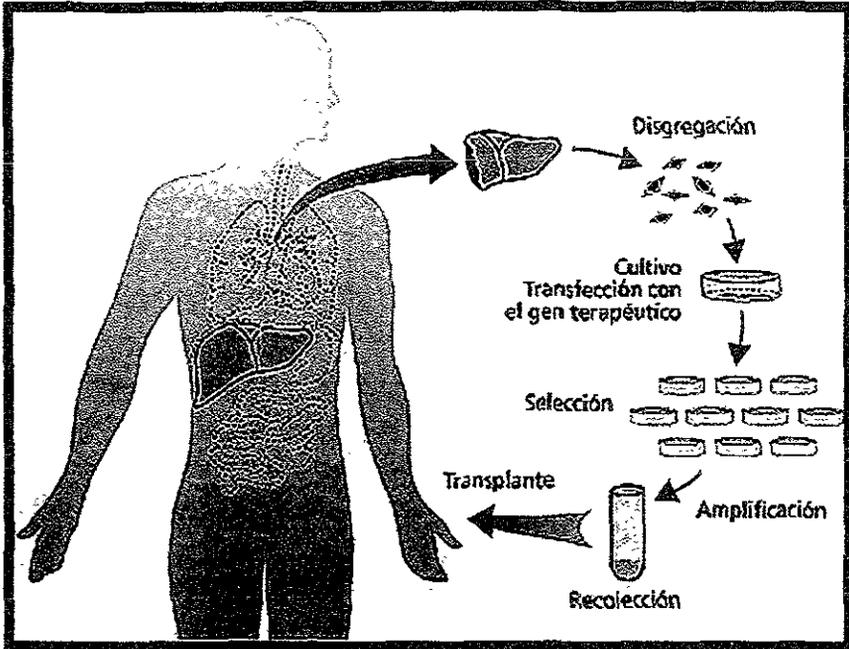
También se le conoce como "*ex vivo*", cuando la corrección del defecto genético es realizada en el laboratorio en las células extraídas del paciente y es un método en los cuales no se usan virus y el tratamiento está basado en la obtención previa de células procedentes de un tejido u órgano de interés.⁴

A continuación se procede a la disgregación de estas y su mantenimiento en condiciones de cultivo *in-vitro*, donde las células son posteriormente infectadas o rellenas con el gen terapéutico que ayudará a mejorar la anomalía utilizando para ello un vector adecuado.

Un ejemplo de esta terapia es, el síndrome de inmunodeficiencia combinada severa producida por deficiencia de la adenosin desaminasa (ADA), en los llamados "niños burbuja".⁴



TÉCNICA "IN VITRO"





Las células infectadas son seleccionadas en función de su capacidad para expresar el gen exógeno o extraño de forma estable y persistente.

Las células así seleccionadas son amplificadas o multiplicadas y recolectadas con el fin de ser reimplantadas en el paciente.

También se pueden utilizar líneas celulares alogénicas o sea que poseen tipos celulares antigénicamente diferentes (son diferentes en sus antígenos), en aquellos casos en los que el órgano o tejido de interés no puede ser extraído con facilidad o que ofrece una dificultad del crecimiento "*in vitro*".⁴

ESTRATEGIA "*in vivo*"

Este tratamiento está basado en la administración sistémica o por vía sanguínea de la construcción génica de interés por inyección intravenosa.

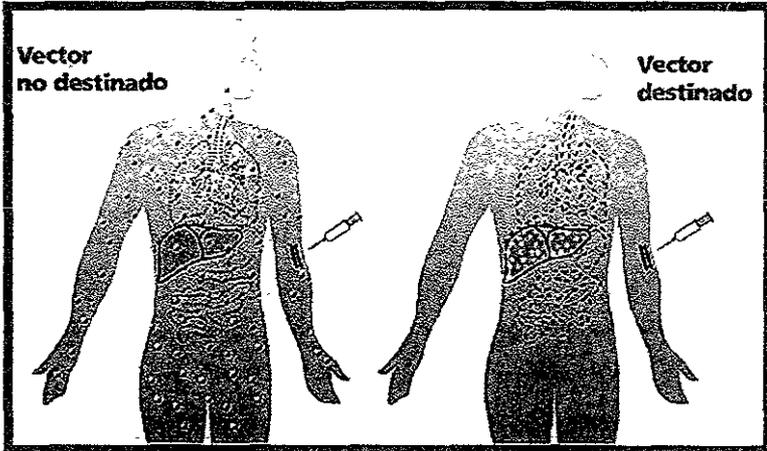
Otra posibilidad sería la de utilizar las células de la piel con el propósito de sintetizar y secretar proteínas que son producidas normalmente en un tipo de células pero que son transportadas en el plasma sanguíneo para el uso de otras células, dando así la posibilidad de corregir enfermedades como la hemofilia, Alzheimer o Parkinson con implante de célula en piel.¹⁰

Aunque el DNA puede ser administrado de forma directa, lo habitual es recurrir a la ayuda de un vector que facilite el proceso de transferencia del gen y permita la entrada y localización intracelular del mismo, para que así este resulte en un gen funcionando.

Así mismo, es importante tener los vectores con destino específico dentro del organismo lo cual permite la entrega celular selectiva del gen en un determinado órgano o tejido, sin requerir para ello procedimientos traumáticos o quirúrgicos.⁴



ESTRATEGIA "in vivo"



4



TÉCNICA “*in situ*”

Esta técnica se lleva a cabo cuando la modificación genética de las células del paciente se realiza introduciendo el DNA o los genes terapéuticos directamente en el propio órgano defectuoso del individuo como por ejemplo, en el caso de la fibrosis quística y la distrofia muscular.¹⁰

Como primer paso hacia el tratamiento de la distrofia muscular, otros investigadores han inyectado un gen directamente en el tejido muscular de animales para investigar la posibilidad de motivar al organismo a fabricar nuevas proteínas musculares.¹²

Es útil cuando la condición está bien localizada, pero al mismo tiempo no puede corregir padecimientos sistémicos.¹²

TÉCNICA PCR

La amplificación de DNA tales como la técnica de PCR o reacción en cadena de polimerasa de los genes de cualquier organismo, incluyendo al hombre.

En genética, un mapa de igual modo es la posición que guardan los genes con respecto a ellos mismos en las cintas de DNA que forman los cromosomas de un determinado organismo.

Comparable a una cinta musical que tiene información que se transforma en música, así es en el DNA que es la parte genética de un cromosoma con su información guardada y expresada en proteínas después para el beneficio celular y que se puede duplicar esa información con esta técnica.

En la técnica PCR vamos a tener los fragmentos de DNA que queremos copiar y que se realiza solo en horas para duplicación de este hasta mil veces de un solo gene, se abre la



cadena, luego se agrega el nucleótido sintético calentando para que separada la cadena se asocie al gen artificial, que con la ayuda de la polimerasa se unirán nuevamente pero ya con la parte genética integrada para su normal función de este duplicándose.¹⁷

DIAGNÓSTICO GENÉTICO

El diagnóstico genético es una pequeña fracción de la medicina moderna que conforme se vayan aislando, cada día más rápidamente, genes asociados a enfermedades humanas más comunes, se espera que llegue el tiempo en que el diagnóstico genético comience a afectar la vida de la mayor parte de la gente y así usar la técnica necesaria para la corrección de la anomalía o la prevención de estas por los medios necesarios.¹⁷

La técnica se realiza con la inserción de una aguja en la para extraer líquido amniótico a partir de las dieciséis semanas de gestación para analizar si el feto presenta algunos de los muchos trastornos genéticos existentes

Así se espera llegar a transferir cromosomas artificiales a los embriones humanos para protegerlos de males como SIDA, Parkinson, diabetes etc, naciendo el niño con un sistema inmunológico reforzado.⁹

Además existe la perspectiva de obtener fármacos que mejoren al embrión, quizás manipulando sus genes para potenciar la inteligencia o la memoria⁹



cadena, luego se agrega el nucleótido sintético calentando para que separada la cadena se asocie al gen artificial, que con la ayuda de la polimerasa se unirán nuevamente pero ya con la parte genética integrada para su normal función de este duplicándose.¹⁷

DIAGNÓSTICO GENÉTICO

El diagnóstico genético es una pequeña fracción de la medicina moderna que conforme se vayan aislando, cada día más rápidamente, genes asociados a enfermedades humanas más comunes, se espera que llegue el tiempo en que el diagnóstico genético comience a afectar la vida de la mayor parte de la gente y así usar la técnica necesaria para la corrección de la anomalía o la prevención de estas por los medios necesarios.¹⁷

La técnica se realiza con la inserción de una aguja en la para extraer líquido amniótico a partir de las dieciséis semanas de gestación para analizar si el feto presenta algunos de los muchos trastornos genéticos existentes.

Así se espera llegar a transferir cromosomas artificiales a los embriones humanos para protegerlos de males como SIDA, Parkinson, diabetes etc, naciendo el niño con un sistema inmunológico reforzado.⁹

Además existe la perspectiva de obtener fármacos que mejoren al embrión, quizás manipulando sus genes para potenciar la inteligencia o la memoria⁹



APLICACIÓN DE LA TERAPIA GÉNICA EN ODONTOLOGÍA

En 1995, Bawm y O'connell escribieron un artículo titulado "El Impacto de la Terapia Génica en la Odontología" y en el describieron:

Principios biológicos fundamentales en el cual se basa la terapia génica para problemas Bucales relevantes¹⁴.

Hoy día es posible llevar a cabo la trasferencia de genes debido al rápido progreso hecho en la biología molecular, la bioquímica del genoma el cual es la información genética de la célula, y los métodos usados para este propósito y se describe como una ciencia emergente que aunque todavía en etapas iniciales presenta ya un gran efecto en la Odontología¹⁵.

LAS GLÁNDULAS SALIVALES COMO BLANCO EN LA TERAPIA GÉNICA

Las glándulas salivales parecen ser un blanco prometedor de la terapia génica, debido a su fácil acceso anatómico y localización para su uso "in vivo", reportan científicos quienes exitosamente introdujeron genes bacterianos y humanos en glándulas salivales de rata, viendo la posibilidad así de reparar estas glándulas dañadas o enfermas por diferentes factores^{15, 18}.

Los científicos usaron al virus del resfriado previamente alterado para que este no se duplicara y así transferir genes a las glándulas salivales parótida, submandibular y sublingual en los dos tipos de células acinares y ductales de la rata con el fin de que esta produjera proteínas humanas o bacterianas detectadas sin demora por las técnicas de laboratorio.^{15, 18}

Los investigadores introdujeron las partículas del virus alterado dentro de los conductos salivales, donde infectaron las células.

Una vez dentro en este lugar los genes incorporados dentro del virus comenzaron la producción de proteínas específicas donde después fueron detectadas en la saliva de las ratas



APLICACIÓN DE LA TERAPIA GÉNICA EN ODONTOLOGÍA

En 1995, Bawm y O'connell escribieron un artículo titulado "El Impacto de la Terapia Génica en la Odontología" y en el describieron:

Principios biológicos fundamentales en el cual se basa la terapia génica para problemas Bucales relevantes¹⁴.

Hoy día es posible llevar a cabo la transferencia de genes debido al rápido progreso hecho en la biología molecular, la bioquímica del genoma el cual es la información genética de la célula, y los métodos usados para este propósito y se describe como una ciencia emergente que aunque todavía en etapas iniciales presenta ya un gran efecto en la Odontología¹⁵

LAS GLÁNDULAS SALIVALES COMO BLANCO EN LA TERAPIA GÉNICA

Las glándulas salivales parecen ser un blanco prometedor de la terapia génica, debido a su fácil acceso anatómico y localización para su uso "in vivo", reportan científicos quienes exitosamente introdujeron genes bacterianos y humanos en glándulas salivales de rata, viendo la posibilidad así de reparar estas glándulas dañadas o enfermas por diferentes factores^{15, 18}.

Los científicos usaron al virus del resfriado previamente alterado para que este no se duplicara y así transferir genes a las glándulas salivales parótida, submandibular y sublingual en los dos tipos de células acinares y ductales de la rata con el fin de que esta produjera proteínas humanas o bacterianas detectadas sin demora por las técnicas de laboratorio.^{15, 18}

Los investigadores introdujeron las partículas del virus alterado dentro de los conductos salivales, donde infectaron las células.

Una vez dentro en este lugar los genes incorporados dentro del virus comenzaron la producción de proteínas específicas donde después fueron detectadas en la saliva de las ratas



El gran éxito obtenido fue la producción de histatina, una proteína no encontrada en la saliva de ratas la cual combate muy eficazmente infecciones bacterianas, lo cual podría ayudar enormemente a pacientes inmunocomprometidos.

Otro campo en el cual los investigadores encuentran la técnica muy prometedora es en la restauración de la función de glándulas salivales dañadas por terapia radiactiva o en enfermedades tales como es el Síndrome de Sjogren.¹⁸

La transferencia de un gen a las glándulas salivales es relativamente sencillo, para lograr ese acceso, se requiere canular los principales conductos excretores y por infusión retrograda, la transferencia del vector genético se lleva a cabo en la glándula sobre las células epiteliales acinares que son las formadoras de la saliva funcionando de esta manera como recipientes.¹⁸

Otros investigadores han aislado el gene formados de la fimbriin importante de la bacteria *porphyromonas gingivalis*, construyendo aparte un Adenovirus recombinante conteniendo este gen para ser transferido a las glándulas salivales para la producción de IgA y que neutralizará a la bacteria inhibiendo su participación en la función de placa.

Esto podría ser una herramienta muy útil contra la enfermedad periodontal, especialmente en poblaciones de alto riesgo.¹⁵

Uno de los problemas es que las células T citotóxicas causan la destrucción del transgen así como las células que expresan la proteína viral por lo que se obtiene así una respuesta temporal.

La readministración simple de otro vector ya no es exitosa debido a la presencia de más anticuerpos neutralizantes por lo que aún se investiga para el mejoramiento de la inducción de la tolerancia oral hacia los vectores adenovirales.

En el caso del virus adenoasociado al cambiar esta característica salvaje a la de vector, esta pérdida su especificidad de integración, es muy útil en tejido muscular, pero no infecta otros tejidos.¹⁴



TERAPIA GÉNICA EN CANCER BUCAL

CAMBIOS GÉNICOS EN EL CANCER BUCAL

Ningún cambio molecular caracteriza a todos los cánceres bucales pero tres comunes son. Translocaciones cromosomales, anomalías de los genes supresores tumorales tales como el p53 y la presencia de DNA del virus papiloma humano HPV, de estas tres la primera no proporciona lugares blanco para la terapia, lo contrario sucede con el segundo.

ANORMALIDADES DEL GEN P53

La mutación de este gene es muy común en la mayoría de los cánceres orales, si este se encuentra ausente o mutado entonces las células serán malignas, si por el contrario se encontrara el gen normal en grandes cantidades las células continuarían con su ciclo normal diferenciándose y muriendo al tiempo indicado.

Es bastante seguro lograr la expresión de este gene en su versión normal con la ayuda de un vector viral en las células cancerígenas mantenidas "*in vitro*", por lo que se observó que las células con el gen defectuoso eran destruidas como se esperaba, mientras que aquellas con el gen p53 normal tienden a ser más resistentes.

VIRUS PAPILOMA HUMANO

Estos son los VPH 16 y 18 clasificados ya de alto riesgo para la mucosa ya que tienen gran afinidad por esta y son encontrados en tumores bucales, puede transformar queratinocitos "*in vitro*" en un fenotipo maligno inmortal, requiere de los genes E6 y E7 además de trauma o irritación para hacer neoplásica a una célula.¹⁵

El virus papiloma humano se ha encontrado en casi la mayoría de los tumores o tipos de cáncer bucal, aunque no se ha encontrado o demostrado la presencia de algún producto de este virus, pero se ha dado atención a la transcriptasa viral que modifica las proteínas E6 y E7 que son las que transforman al virus.¹⁵



Esta transcripción puede ser cortada por ribosomas, los cuales son moléculas RNA antisentido y que tienen actividad enzimática, y que cuando se observa su presencia en cancer cervical este último presenta reducción en los parámetros de malignidad.

Por eso mismo se les ha prestado atención en su función al abrirse paso entre los genes del HPV haciéndoles imposible la producción de proteínas que interfieren con el control del crecimiento celular catalizando las reacciones bioquímicas considerándose así un paso fuera del tubo de ensaye en las células del laboratorio ¹⁵



TRASFERENCIA GÉNICA EN QUERATINOCITOS DE LA MUCOSA BUCAL

Se ha pensado en los queratinocitos genéticamente alterados in-vitro usando retrovirus, este virus introduce un gen dentro del genoma celular permanentemente y además de que los queratinocitos pueden ser cultivados en capas celulares que entonces pueden ser regresados al paciente donador como un estable auto injerto, el cual es desarrollado para pacientes quemados.¹⁵

La estrategia se ha usado para transferir genes dentro de los queratinocitos epidérmicos o mucosos, además de que secretan una serie de proteínas fuera de la célula como la poliproteína E que regula el colesterol y la lipoproteína del metabolismo en ratones inmunodeprimidos lo suficiente como para rechazar el injerto, notándose así su lado prometedor para niveles sistémicos de hormonas que puede ser administrado en la mucosa bucal.¹⁵

GENES SUICIDAS

En este método se introducen genes que hagan sensibles a las células cancerígenas a tóxicos, medicamentos o a la quimioterapia lo cual las hace más susceptibles acelerando su destrucción.¹²

Un ejemplo de esto es el uso de la enzima timidina quinasa del virus del herpes simple que las hace más sensibles al fármaco ganciclovir, de esta manera con el uso de un virus vector y con la administración sistémica de este medicamento ha sido demostrado la reducción del crecimiento de los tumores.

Aunque la expresión del gen es limitada en tiempo, se ha visto el mismo resultado en la mayoría de los cánceres de los animales transgénicos los cuales son aquellos en los que se experimenta con la transferencia de genes, y presentan también remisiones.



VECTORES

Los Adenovirus presentan nivel alto en la infección de células bucales en cultivo así como en la expresión del gene en el tumor, la razón por la cual otros vectores no son tan efectivos quizás sea que se les inhibe su capacidad de replicación.

Debido al buen crecimiento que tiene este virus en el epitelio bucal sé esta considerando su aplicación en estos.¹⁹

PROMOTORES

Los genes se expresan bajo la influencia de promotores genéticos y muchos de estos se expresan preferentemente en algunos tumores limitando la función de un gen suicida para el tumor como ocurre en el cancer de hígado y melanomas malignos¹⁹

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA.



EL FUTURO DE LA TERAPIA GÉNICA EN LA PRACTICA DENTAL DEL SIGLO XXI

La aplicación de la terapia génica es importante también en la salud bucal con el uso de los genes como agentes farmacéuticos **terapéuticos**, y la reparación de glándulas salivales irradiadas debido a terapia del cancer bucal **terapia**.²⁰

En el ser humano se han realizado diversas pruebas con el gen p53, expresión de genes suicidas y el uso competente de los Adenovirus tanto en todos los tipos de cancer como en el bucal, y aunque no se ha dado beneficio en algún hombre con la terapia génica, los datos siguen creciendo y avanzando en este campo.¹⁹

¿Qué hay de la muerte del ser humano? Se cree la solución radica en la manipulación del DNA en el que se ha logrado duplicar la duración de la vida de algunos gusanos y moscas del vinagre con técnicas aplicables al ser humano en el futuro.⁹

El director de la empresa Human Genome Science Inc. Dijo: "Es la primera vez que podemos plantearnos la inmortalidad del ser humano".⁸

Nuestra sociedad ha pasado de la era nuclear en forma ciega, era del DDT y otros pesticidas ciegamente también por lo que no se debe pasar a la ingeniería genética sin precaución, en su lugar debemos pasar a esta apasionante era con el conocimiento de que puede ser usado con fines malos y nobles, también siendo vigilantes de estos acontecimientos.¹²



CONCLUSIONES

Se ha explicado brevemente la historia de la genética como ciencia y del papel que desempeña el proyecto genoma humano para su aplicación en la transferencia y su terapia génica no solo a nivel médico general sino odontológico también en sus diferentes áreas.

Al principio parece que esto no tendrá mucho que ver con el cuidado rutinario de la boca sino solo para pacientes con problemas periodontales, por lo que se sospecha que la transferencia génica será más común, por lo que puede ser posible el uso de estos métodos para la ruptura de la formación de placa de manera eficiente mediante genes transfectados.

Si la transferencia fuera estable, se tendría más alcance en la práctica dental por lo que la condición en la que se encuentran las úlceras bucales, pérdida del hueso parodontal y el retraso de la erupción dental estarían en un tratamiento diferente al actual.

Lo que es importante de reconocer por los dentistas es que este breve repaso conduzca al conocimiento del gran cambio biológico que se está dando y que se ha considerado por algunos como ciencia-ficción como ha ocurrido antes con acontecimientos que hoy son una realidad.

Los dentistas de hoy deben ser capaces de proporcionar servicio actualizado en biología que está cambiando en niveles poco convencionales y dramáticos a sus pacientes para el buen cuidado de la salud.

Independientemente de que la odontología abrace la nueva medicina molecular ilustrada por los procedimientos de transferencia génica, este campo ciertamente cambiará la naturaleza de la práctica dentro de los próximos 20 años.



GLOSARIO

ÁCINO: Dilatación sacular, observada en diversas glándulas.

ALELOS: Genes que están localizados en el mismo nivel o locus en los dos cromosomas de un par y que determinan las mismas funciones o características⁷.

CARIOTIPO: microfotografía de los cromosomas distribuidos

CATALIZAR: Retardo o inhibición de una reacción

CÉLULA SOMÁTICA: Célula corporal no diferenciada

CROMOSOMA: Estructura del núcleo celular que contiene un filamento lineal de DNA que transmite información genética y guarda relación con el RNA y con histonas.

DNA: Ácido nucleico contenido en las células; por hidrólisis se obtienen adenina, guanina, citosina, timina, desoxirribosa y ácido fosfórico y es el portador de la información genética.

EPISOMA: En genética bacteriana, cualquier elemento genético extracromosómico accesorio en duplicación que se presenta en forma autónoma o integrado con los cromosomas.

FENOTIPO: Son las características observables en una persona

GEN: Unidad biológica de la herencia, que se produce espontáneamente y se encuentra en una posición definida (locus) sobre un cromosoma particular.

GENOMA: Conjunto de factores hereditarios contenidos en la serie de cromosomas haploides.

GENOTIPO: Toda la constitución genética de un sujeto



LIPOSOMAS: Son bolsitas de lípidos que contienen DNA

LOCUS: Es la posición ocupada por un gene en un cromosoma⁷

MITOSIS: Método de división de una célula que consta de un complejo de varios procesos, Por medio del cual los dos núcleos derivados reciben normalmente complementos idénticos del numero de cromosomas característicos de las células somáticas de la especie.

MUTACIÓN: Cambio transmisible permanente del material genético, que suele producirse en un solo gen.

PLÁSMIDO: Cualquier elemento extracromosómico autorreplicador de una célula y si pueden integrarse en el cromosoma se le conoce también como episoma.

SÍNDROME DE SJOGREN: Grupo de enfermedades autoinmunes con marcada predilección por mujeres, cuyo componente más llamativo es un proceso autoinmune intenso mediado por linfocitos t en las glándulas salivales y lagrimales²¹.

VECTOR: Portador que transfiere un agente infeccioso de un huésped a otro.

VIRUS: Cada uno de los miembros de un grupo de minúsculos agentes infecciosos, caracterizados por falta de metabolismo independiente y capacidad para duplicarse sólo dentro de células independientes vivas.



REFERENCIAS

- 1 - Anderson M. **Human Gene Therapy**. Annu Rev Biochem 1993. 62: 191-217
2. - Culver K. **Lymphocyte Gene Therapy**. Hum Gene Therapy 1991; 2: 107-9
3. - Salamanca F. **El proyecto del Genoma Humano** Rev Fac Med UNAM Vol.43 No. 4 Julio-Agosto, 2000 143-144
4. - www.durvis.com (todos los esquemas).
- 5 - Cohen S. **DNA Cloning: Historical Perspectives**. Biogenetics 1995, 3-13
6. - Sounders W. **Términos médicos**. Diccionario Médico de bolsillo Dorland. Interamericana 1989
7. - Ivsen O. **Oral Pathology for the Dental Hygienist**. Third edition. Ed. Sonders company N.Y. 2000 301-305
8. - Puertas M. **Ingeniería genética molecular y biotecnología** Genética Fundamentos y Perspectiva. Interamericana 1992 707-722
9. - Franz W. **Will Science Create a Perfect Society?** Awake 2000, September 22 pp 6-12
10. - [Www.pntic.mec](http://www.pntic.mec)
11. -Smith E. **Gene therapy—Where are we?** Molecular Medicine 354 July.1999 96-99
- 12 - French W. **Gene therapy**. Medicine Scientific American, September 1995, 96-99
13. - O'Connell B. **In vivo Gene Transfer to Salivary Glands**. Crit Rev Oral Biol Med 1999 10: (3) 276-283



14. - Libuse B., **Gene Transfer and Therapy-Application in Dentistry**. Biochemistry fall semester 2000 01-07
15. - Baum B. **The Impact of Gene Therapy on Dentistry**. JADA, Vol. 126, February 1995 pp. 179-189
16. - Miller D **Human Gene Transfer**. Adv. Dent. Res. 9(3)(suppl): 21, November, 1995 21
- 17 - Bolívar F. **La Genética Moderna: Horizontes**. Colegio Nacional 1995 19-64
18. - Types P **Salivary glands Targeted in gene therapy study**, J Am Dent Assoc. 1994 July. 125(7) 802-4
19. - Shillitoe E **Gene therapy for Oral Cancer: recent progress in research**. Oral Oncology 34 (1998) 157-160
- 20 -Baum B., **The Mouth is a Gateway to the Body: Gene Therapy in 21st. Century Dental Practice**. CDA Journal june 1998. (6) 26: 455-460
21. - Sapp P. **Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea**. División Iberoamericana. Madrid España 1998. p.334
22. - Mark H. **Genética Médica El Manual Merck**. Edición del centenario. Harcourt 1999
23. - Luzzarato L. **Introduction: From the Genetics Basis of Blood Disorders to Gene Transfer for the purpose of Gene Therapy**, Seminars in hematology. Vol 35, (2) April, 1998: pp 89-92
24. - **Www.medline.org**
25. - Lander E. **Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome**. Nature Vol, 409. February 15, 2001