

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Principios de laboratorio y aplicaciones en la práctica clínica de las técnicas moleculares, genómicas y proteómicas

Laboratory principles and applications of the proteomic, genomic and molecular techniques in the clinical practice

Dra. Jenny Hernández Betancourt*, Dr. Orlando R. Serrano Barrera**

*Especialista de Primer Grado en Laboratorio Clínico. Máster en Enfermedades Infecciosas. Profesora Asistente.
Especialista de Segundo Grado en Inmunología. Máster en Enfermedades Infecciosas. Investigador Agregado. Profesor Asistente. Hospital General Docente "Dr. Ernesto Guevara de la Serna", Las Tunas, Cuba. **Correspondencia a: Dra. Jenny Hernández-Betancourt, correo electrónico: jenny@ltu.sld.cu.

RESUMEN

La heterogénea expresión clínica de las enfermedades, la necesidad de la interpretación de los procesos fisiológicos y fisiopatológicos, así como la búsqueda incesante de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas, han conducido al desarrollo de las biociencias, en particular de la genética, la genómica, la biología molecular y las tecnologías asociadas. Han emergido en los últimos años disciplinas como la transcryptómica, la epigenómica, la proteómica y la metabolómica, cada una con un objeto de estudio determinado, que deriva de los tipos moleculares específicos y sus relaciones y todas con aplicaciones potenciales dentro de una nueva medicina con un enfoque personalizado. Hoy se dispone de técnicas moleculares que se basan en la hibridación de ácidos nucleicos, tanto in situ como el dot-blot, el Southern blot y el Northern blot. Otros métodos requieren la amplificación del ADN, como la reacción en cadena de la polimerasa, los microarreglos y la secuenciación. La proteómica se perfila como una potente herramienta para el estudio de aspectos fisiológicos y patológicos del ser humano; sus técnicas incluyen la electroforesis bidimensional, la espectrometría de masas y las micromatrices de proteínas. La búsqueda activa de biomarcadores a partir de casi todos los líquidos biológicos y tejidos de varias naturalezas es una de las principales aplicaciones de la proteómica. Es importante atender, comprender e introducir estos nuevos métodos en la práctica clínica por sus potencialidades para el diagnóstico, el desarrollo de estrategias terapéuticas, la predicción y estratificación de riesgo, de la resistencia al tratamiento y las posibilidades de supervivencia.

Palabras clave: DIAGNÓSTICO MOLECULAR; MEDICINA PERSONALIZADA; GENÓMICA; SECUENCIACIÓN; PROTEÓMICA; BIOMARCADORES.

Descriptor: GENÓMICA; INESTABILIDAD GENÓMICA; ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO; PROTEÓMICA.

SUMMARY

The heterogeneous clinical expression of diseases, the need to interpret the physiological and physiopathologic processes, as well as the endless search of new diagnostic and therapeutic strategies, have led to the development of biosciences, particularly genetics, genomics, molecular biology and the associated technologies. New disciplines have emerged in the last years, such as transcryptomics, epigenomics, proteomics and metabolomics, each one with a particular object of study deriving from the specific molecular entities and their relationships, and every one with potential applications within a new medicine with a personalized approach. Nowadays, there are available molecular techniques based in nucleic acid hybridization, both in situ or dot-blot, Southern blot and Northern blot. Other methods require DNA amplification, as the polymerase chain reaction, micro-arrays and sequencing. Proteomics is shaped as a potent tool for the study of physiological and pathological features of the human body; its techniques include the two-dimensional electrophoresis, the mass spectrometry and the protein microarrays. The active search of biomarkers in almost every biological fluids and tissues from various sources is one of the main applications of proteomics. It is important to pay attention, understand and introduce these new methods in



the clinical practice because of their potentials for the diagnosis, development of therapeutic strategies, risk prediction and stratification, identification of drug resistance and survival options.

Key words: MOLECULAR DIAGNOSIS; PERSONALIZED MEDICINE; GENOMICS; SEQUENCING; PROTEOMICS; BIOMARKERS.

Descriptors: GENOMICS; GENOMIC INSTABILITY; GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY; PROTEOMICS.

INTRODUCCIÓN

El enfoque molecular de las enfermedades no es una tendencia, una alternativa o una novedad, sino el resultado ineludible e inevitable del desarrollo de las biociencias y de las tecnologías asociadas. Se impone, aparejado a los avances y aplicaciones de la genética y la medicina personalizada, por su participación en la interpretación de los procesos fisiológicos y fisiopatológicos y en la creación y aplicación de nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas. (1-3) La genómica es la disciplina científica encargada del mapeo, la secuenciación y el análisis del genoma; facilita la identificación y la comprensión de la función de los genes a través del estudio de su naturaleza física, expresión, mecanismos de acción y regulación. (3, 4)

El genoma humano está organizado en 23 pares de cromosomas y una fracción menor, ubicada en las mitocondrias, relevante para un grupo de enfermedades. (2-5) El código genético depende de combinaciones de los nucleótidos que forman la hebra del ácido desoxirribonucleico (ADN): adenina, citosina, guanina y timina, cuyas formas complementarias en el ácido ribonucleico (ARN) definen los aminoácidos. A su vez, de las cualidades físico-químicas e interacciones de estos últimos dependen todas las propiedades biológicas de las proteínas; al conocer la secuencia de un gen, entonces se pudiera predecir la secuencia de la proteína y su función biológica. (2-4, 6) Las pruebas diagnósticas, basadas en la secuencia del ADN, se consideran fundamentales hoy en la práctica médica, tanto con fines asistenciales como investigativos. Permiten, de forma general, la identificación y caracterización de un elevado número de genes, cuyas variantes o formas mutadas ocasionan determinadas enfermedades humanas. (3, 4, 7)

DESARROLLO

Las pruebas diagnósticas en el campo genético pueden clasificarse como directas o indirectas, en dependencia de si detectan o no el gen o la secuencia de interés. (4) En las directas es posible definir el diagnóstico tras identificar en los pacientes las diferentes mutaciones relacionadas con enfermedades genéticas raras, que presentan patrones de herencia mendeliana. Las técnicas indirectas, independiente del conocimiento del gen causal, se fundamentan en el estudio de la herencia conjunta de diferentes marcadores y el locus de la enfermedad estudiada. (4) De esta manera los estudios de la medicina genómica, a partir de la

secuencia del genoma humano, aportan la posibilidad de encontrar uno o varios loci implicados en la herencia de enfermedades complejas, tanto en las características propias de un gen, desde las variaciones diminutas, llamadas polimorfismos de nucleótido simple, como cuantitativamente al considerar el número de copias, por las amplificaciones y deleciones del gen. (3-5, 8, 9)

No obstante, todas las ventajas que la genómica y su gran variedad de métodos diagnósticos, que proporcionan a la medicina opciones para la detección de enfermedades, su pronóstico, la identificación de individuos asintomáticos, la predicción del riesgo de futuras afecciones en sujetos sanos o su progenie, (3, 4) no es siempre posible ofrecer la certeza o una medida, por mínima que sea, de padecer ciertas enfermedades a partir del examen del mapa genético de un individuo. (6)

El panorama del diagnóstico médico es aún más complejo por el confirmado hecho de que muchas enfermedades se manifiestan en dependencia de la interacción con y la exposición del individuo al medio. La epigenética, relacionada con las modificaciones químicas que experimentan el ADN y las proteínas que lo envuelven y que regulan su expresión, a partir de dos procesos básicos, la metilación y la acetilación, influye también en la expresión de rasgos y enfermedades. (4, 5, 8-10) Por otra parte, la simple enumeración de los genes no informa mucho sobre las funciones celulares, pues ninguna célula los expresa todos simultáneamente, sino que, dependiendo del tipo celular, el estadio de desarrollo y de los estímulos que reciba, expresará una parte de su genoma. (11)

El hecho es que en los 23 pares de cromosomas, que contienen cerca de 20 000 genes que codifican entre 250 000 y 1 000 000 de proteínas contenidas en 1 300 millones de pares de bases, (3-6) un sutil cambio en la secuencia de nucleótidos, puede tener un significado funcional trascendental que puede predisponer a no desencadenar una enfermedad. (4) Igualmente, las variaciones en la secuencia de nucleótidos, presentes en el ADN, puede tener un gran impacto sobre la forma en que los seres humanos responden a las agresiones ambientales: agentes infecciosos, toxinas, compuestos químicos, elementos de la dieta y fármacos. (2-4) Además, un mismo gen puede dar lugar a diferentes formas proteicas y estas, a su vez, pueden interactuar con otras proteínas, formando complejos moleculares; tampoco debe olvidarse que las proteínas presentan distintas modificaciones postraduccionales, que dan lugar a entidades moleculares diversas que pueden estar presentes simultáneamente. (11)

Como resultado del desarrollo de esta área de la ciencia, de la genómica emergen otras disciplinas como la transcriptómica, la epigenómica, la proteómica, la metabolómica y la interactómica, cada una con un objeto de estudio particular que deriva de los tipos moleculares específicos y sus relaciones. (2-4, 6, 11) A la par se desarrollan herramientas computacionales, que de hecho surgieron antes del comienzo de la era de internet o de los proyectos de secuenciación del genoma. (12, 13) En la década de los años 60 del pasado siglo, la creciente cantidad de datos referentes a la secuencia del ADN y la química de las proteínas llevó a los científicos a combinar las estrategias de la biología molecular, las matemáticas y las computadoras. De esta manera surgen la bioinformática y la biología computacional como disciplinas estrechamente relacionadas, que buscan y utilizan patrones, sus relaciones y estructuras inherentes en datos biológicos como secuencias génicas, así como el desarrollo de nuevas metodologías para el acceso y la recuperación en bases de datos, que también generan. (5, 12, 13)

Los avances en biología molecular, la secuenciación genómica y la proteica han permitido el desarrollo de pruebas diagnósticas altamente específicas y de gran rendimiento, tanto para las enfermedades crónicas como para las transmisibles. (4, 7, 11, 14-20)

Diagnóstico molecular

El diagnóstico molecular es una disciplina que se desarrolla con celeridad y nuevos métodos y técnicas se aplican en los laboratorios, sobre todo para el diagnóstico de enfermedades genéticas e infecciosas, aunque se expande a otras áreas como la farmacogenética, la medicina personalizada y el cáncer. (7, 16, 20, 21) A través de las técnicas moleculares se detectan y caracterizan el ADN o el ARN en muestras biológicas para la detección de afecciones cardíacas, el cáncer de mama, la enfermedad de Parkinson y la infección por el virus de la influenza A H1N1, por solo mencionar algunos ejemplos. (7, 16, 18, 22-28)

Están, en primer lugar, los métodos sin amplificación, que incluyen varias técnicas que se basan en la hibridación con sondas de ADN. (1, 7, 16) Todos los ensayos de hibridación se fundamentan en la mezcla de hebras sencillas de un ácido nucleico muestra o diana no marcado, con una sonda de secuencia conocida, marcada, bajo condiciones experimentales que permitan el apareamiento entre bases complementarias. Es un método relativamente simple, pero requiere la presencia de dianas en altos niveles, por lo que su uso se limita en algunas muestras biológicas. Cuando la sensibilidad no es una limitación, la hibridación es un método excelente, porque es relativamente sencillo, los resultados se obtienen rápidamente y no son susceptibles de contaminaciones, como los métodos de amplificación. Los ensayos de hibridación se pueden

clasificar en tres grupos: en fase líquida, en soporte sólido (dot-blot y spot-blot, Southern blot y Northern blot) e hibridación in situ. (1, 7) Su aplicación en estudios microbiológicos es amplia, fundamentalmente en la identificación de bacterias y hongos en los cultivos celulares o después de la transcripción por amplificación. La hibridación in situ es usada para detectar duplicaciones y mutaciones en los genes. (7, 16)

Dentro de los métodos que se basan en la amplificación se distinguen, entre otros, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés Polymerase Chain Reaction), los microarreglos (DNA microarrays) y la secuenciación nucleotídica. (6, 7, 16-18, 26-31)

La introducción de la PCR revolucionó el diagnóstico molecular. (7, 29, 30) Es una herramienta de inestimable valor, que se extiende de manera significativa hacia los laboratorios clínicos. Su aplicación gira en torno a la genética, las enfermedades infecciosas, (7, 27) las neurodegenerativas como el Parkinson (26) y el cáncer, no solo como método diagnóstico, sino también para el seguimiento y la evaluación de la respuesta a la terapéutica. (18, 21, 28, 32-37) Es un método que permite obtener en poco tiempo varios millones de copias de una secuencia blanco de ADN. Los requerimientos son mínimos: un molde a base de una pequeña muestra de ADN, la enzima ADN polimerasa, oligonucleótidos o cebadores, sustratos para copiar las cadenas nuevas a punto de partida del molde y un amortiguador que se encarga de estabilizar la reacción. La técnica consta de tres pasos: desnaturalización, hibridación y extensión. Como resultado del proceso se logra amplificar el segmento deseado en varios órdenes de magnitud, en 107 copias. (17, 29, 30) Tanto la PCR como la PCR en tiempo real, modificación de la primera, son útiles en el campo de las enfermedades infecciosas, en la detección de una amplia gama de patógenos y han sustituido a pruebas convencionales por su alta sensibilidad y la rapidez con que se puede llegar al resultado, para la identificación de *Mycobacterium tuberculosis*, papilomavirus humano y *Chlamydia*, entre otras. Particularmente la PCR en tiempo real permite la cuantificación de ácidos nucleicos con mayor sensibilidad, especificidad y reproducibilidad. (7, 27, 29) La PCR también ha enriquecido la determinación de huellas genéticas (genetic signatures) de ADN. (17)

Los microarreglos, por su parte, son dispositivos para determinar simultáneamente en una muestra de ADN la presencia de muchas secuencias; se basan igualmente en el principio de unión preferencial de secuencias complementarias de ácidos nucleicos de cadena simple. Consisten en una lámina de vidrio, sobre la cual se fijan moléculas de ADN en sitios definidos (spots). En cada matriz puede haber decenas de miles de puntos, cada uno con hasta 107-108 moléculas de ADN. La técnica consiste en fijar las sondas en sitios específicos del

soporte rígido, proceder al marcaje radiactivo o fluorescente con más de un color de la mezcla a ser analizada, exponer tal matriz a la mezcla o muestra y luego analizar los sitios fluorescentes. (7) Su aplicación es vasta en el campo de la medicina: diagnóstico y clasificación de enfermedades, selección de la terapéutica antimicrobiana y en la investigación de estados y procesos celulares como la diferenciación, la proliferación y la apoptosis y signos genéticos de advertencia. (7, 18, 25, 28)

Secuenciación y tecnologías genómicas

Si se toma como punto de partida la técnica de secuenciación descrita en 1977 por Sanger, que permite obtener la secuencia de uno o varios fragmentos determinados de ADN, y se llega hasta la llamada secuenciación paralela o de próxima generación (next generation sequencing, NGS), que establece un salto de varios órdenes de magnitud, en cuanto a la longitud de los fragmentos secuenciados y a la rapidez en su secuenciación, es posible percatarse del avance extraordinario al que estamos asistiendo en este siglo, en relación con las técnicas diagnósticas genómicas y moleculares. (15)

Para realizar una secuenciación genómica o exómica, a través de la NGS, se necesitan aproximadamente 10 µg de ADN, que no esté fragmentado ni contaminado con sustancias orgánicas. Este ADN, antes de ser secuenciado, se somete a varios procesos, que incluyen la segmentación en cadenas de ADN de tamaño corto y la captura, cuando se quiere secuenciar solamente las regiones de interés del genoma como, por ejemplo, los exones, mediante array o en disolución, y su amplificación. Una vez realizados estos procesos, se inicia la secuenciación, en la que se van a producir secuencias de tamaño corto (35-400 pares de bases, según el dispositivo utilizado) y, posteriormente, las secuencias obtenidas son alineadas a un genoma de referencia o, en el caso de los genomas de novo, ensambladas mediante regiones solapadas que compartan. (15)

La superioridad de la NGS sobre la técnica clásica es innegable; a pesar de que esencialmente a través de la NGS se secuencian fragmentos de ADN más cortos, que pueden contener más errores y tener menor sensibilidad con relación a la tecnología clásica de Sanger, al ensamblarse las secuencias a un genoma de referencia y de modo paralelo, se multiplican y se llega a conocer con exactitud la secuencia de millones de pares de bases hasta, inclusive, secuenciar el genoma completo (15) con un alto rendimiento diagnóstico. Ofrece la oportunidad de conocer las diferencias interindividuales y poblacionales y, con tan solo agregar los genomas de virus, por ejemplo, al genoma de referencia, es posible detectar las hepatitis, el virus de la inmunodeficiencia humana o cualquier otro virus presente en un individuo. (7, 15)

Proteómica y metabolómica

El proteoma constituye un nivel de complejidad superior al del genoma; en él se incluyen todas las proteínas presentes en un sistema biológico, tanto las proteínas traducidas directamente a partir del material genético, como también aquellas sometidas a modificaciones postranscripcionales y postraduccionales. (6, 14) Existe, pues, un único genoma, pero múltiples proteomas. (3, 11)

La proteómica se perfila como una potente herramienta para el estudio de aspectos fisiológicos y patológicos del ser humano, por ser una disciplina altamente dinámica: un único gen puede dar lugar a múltiples formas proteicas y estas llegar a conformar verdaderos complejos, que luego se modifican e interactúan bajo condiciones postraduccionales disímiles, ya sean cambios ambientales, exposición a gérmenes, a fármacos u otros. Su línea de desarrollo y aplicación en el campo de las ciencias médicas está muy bien definida: identificación de marcadores proteicos o biomarcadores para diagnóstico, pronóstico o respuesta a la terapéutica, como en el caso de la enfermedad de Alzheimer. (3, 6, 11, 14, 39)

Las técnicas útiles para el estudio del proteoma y la metabolómica incluyen la electroforesis bidimensional (2-DE), la espectrometría de masas, las micromatrices o microarrays de proteínas y la bioinformática. (3, 6, 12-14, 38) La espectrometría de masas permite la separación, identificación y cuantificación de moléculas, basada en su relación masa/carga, en diferentes matrices líquidas o sólidas, después de su ionización. Para biomoléculas, la masa se puede medir a partir de una pequeña cantidad de sangre con una exactitud tal, que permite discernir cambios mínimos, por ejemplo, entre un aminoácido y otro o una modificación postraduccionales, eventos que pueden tener tan alta repercusión en la expresión de los genes. (6, 38) Para algunos, la espectrometría de masas es la técnica que más promete en la identificación de nuevos biomarcadores. (6, 7, 11, 38) La detección temprana y eficiente de biomarcadores anormales o de la elevación de aquellos que deben mantenerse en determinados niveles, permitirá hacer diagnósticos precoces, así como predecir la expresión y evolución de algunas enfermedades o ambas.

En el año 2001 los Institutos Nacionales de Salud (NIH, por sus siglas en inglés) definieron el término de biomarcador como una característica que se mide y evalúa objetivamente como indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica. (6, 14, 39) La búsqueda activa que se realiza de biomarcadores se sustenta en investigaciones a partir de varios líquidos biológicos; los más universales son el plasma y la orina, aunque se ensayan el líquido cefalorraquídeo, el líquido amniótico, la saliva y tejidos diversos de varias naturalezas. (6, 14, 39)

Las enfermedades en las que la proteómica ofrece mayores aportes son las oncológicas, (6) las endocrinológicas y las neurológicas, particularmente las neurodegenerativas como el Alzheimer, (39) el Parkinson (26) y la esclerosis múltiple. (11) Con el desarrollo de la inmunoproteómica las enfermedades infecciosas también se suman, contando con potentes y numerosos biomarcadores que ayudan igualmente con el diagnóstico, el pronóstico, la predicción y la monitorización en el curso de infecciones tan relevantes como la neumonía adquirida en la comunidad; (20) se proyecta, además, hacia dianas terapéuticas, que sirvan como punto de partida para el diseño e implementación de inmunoterapias y vacunas. A partir del líquido cefalorraquídeo también se ensayan marcadores para el diagnóstico precoz de enfermedades prenatales, sin necesidad de recurrir a métodos invasivos, y a partir de órganos específicos en enfermedades hepáticas, renales y cardiovasculares. (11, 14, 19, 22, 31)

El cáncer constituye un problema de salud a nivel mundial. (8, 40) Su diagnóstico temprano y la administración de la terapéutica acertada son dos de los pilares fundamentales para combatirlo. (25, 41) El cáncer colorrectal, (8, 9, 42) los tumores invasivos de mama (18, 21, 24, 32-37, 41, 43) y el cáncer de próstata (10, 44, 45) son ejemplos de enfermedades de etiología compleja, en las que el uso de biomarcadores ha sido reconocido como necesario para el diagnóstico, el desarrollo de estrategias terapéuticas, la predicción y

estratificación de riesgo, de resistencia al tratamiento y supervivencia.

En las enfermedades cardiovasculares la aplicación de los marcadores está reportada en el síndrome coronario agudo, el fallo cardíaco y en varias cardiomiopatías, entre otros, no solo para el diagnóstico, sino que se expande hacia predicciones en cuanto a la supervivencia o el riesgo de presentar nuevos eventos y remisiones, particularmente en los pacientes con infarto agudo de miocardio, lo que depende hoy en buena medida del uso de las troponinas y sus isoformas. (19, 22)

CONCLUSIONES

La extensión de las técnicas genómicas, moleculares y proteómicas hacia la práctica médica habitual pudiera verse como un fenómeno lejano por la complejidad de algunos procedimientos y su elevado costo; sin embargo, la celeridad con que se abaratan y la vasta aplicación y beneficios que su uso traerían aparejados, aseguran optar por ellas en un futuro próximo. La integración del plano genómico, proteómico y metabólico, con los datos clínicos, epidemiológicos y de laboratorio son ya una necesidad que conducirá al ejercicio de una medicina más integral, más predictiva y más enfocada en las características individuales de cada paciente. Urge ocuparse de introducir su enseñanza en la educación médica, tanto en el pregrado como en el posgrado, para preparar a la generación que las aplicará en el futuro próximo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Luque J, Herráez A. Texto ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética. La Habana, Editorial Ciencias Médicas. 2001.
2. Octavio-Aguilar P, Ramos-Frías J. Aplicación de la genética de poblaciones en el ámbito de la medicina. *Biomédica [revista en Internet]* 2014[citado 23 de octubre 2014]; 34(2): 171-9. Disponible en: [MedicLatina](#).
3. Martín de Civetta MT, Civetta JD. Carcinogénesis. *Salud Pública Mex [revista en Internet]* 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 53(5): 405-414. Disponible en: [MedicLatina](#).
4. Burguete A, Bermúdez-Morales VH, Madrid-Marina V. Medicina genómica aplicada a la salud pública. *Salud Pública Mex [revista en Internet]* 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 51(supl3): S379-S385. Disponible en: [MedicLatina](#).
5. Cañedo Andalia R, Rodríguez Labrada R, Vázquez Mojena Y. Centro Nacional para la Información Biotecnológica de los Estados Unidos: un palacio de la información para la medicina molecular. *Acimed [revista en Internet]* 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 19(4). Disponible en: [MedicLatina](#)
6. Pando Robles RV, Lanz-Mendoza H. La importancia de la proteómica en la salud pública. *Salud Pública Mex [revista en Internet]* 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 51(supl3): S386-S394. Disponible en: [MedicLatina](#).
7. Hernández Hernández FC, Rodríguez MH. Avances biotecnológicos en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *Salud Pública Mex [revista en Internet]* 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 51(3): S424-S438. Disponible en: [MedicLatina](#)
8. Palacio Rúa KA, Muñetón Peña CM. Bases moleculares del cáncer colorrectal. *Iatreia [revista en Internet]* 2012 [citado 23 de octubre 2014]; 25(2): 137-148. Disponible en: [MedicLatina](#).

9. Arturo-Arias BL, García-Restrepo N, Uribe PT, Betancur JF. Cancer colorrectal: una mirada clínica, genética y molecular. Arch Med (Manizales) [revista en Internet] 2013 [citado 23 de octubre 2014]; 13(2): 208-19. Disponible en: [MedicLatina](#).
10. Costa VL, Henrique R, Jerónimo C. Epigenetic markers for molecular detection of prostate cancer. Disease Markers [revista en Internet] 2007 [citado 23 de octubre 2014]; 23 (1/2): 31-41. Disponible en: [Academic Search Premier](#).
11. San Miguel Hernández A. Importancia de la implantación de la proteómica a nivel asistencial. Rev Lab Clin [revista en Internet] 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 4(4): 171-172. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/18884008/4>.
12. Benítez Páez A, Cárdenas-Brito S. Bioinformática en Colombia: presente y futuro de la investigación biocomputacional. Biomédica [revista en Internet] 2010 [citado 23 de octubre 2014]; 30(2): 170-7. Disponible en: [MedicLatina](#).
13. Franco María L, Cediell Juan F, Payán C. Breve historia de la bioinformática. Colomb. Med. [revista en Internet] 2008 Mar [citado 23 de octubre 2014]; 39(1): 117-120. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342008000100015&lng=es.
14. Laborde CM, Zubiri I, Alonso-Orgaz S, Mourino-Alvarez L, Álvarez-Llamasc G, Barderas MG. Aportaciones de la proteómica al laboratorio clínico. Rev Lab Clin [revista en Internet] 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 4(4): 214-224. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S188840081100081X>.
15. Jiménez-Escrig A, Gobernado I, Sánchez-Herranz A. Secuenciación de genoma completo: un salto cualitativo en los estudios genéticos. Rev Neurol [revista en Internet] 2012 [citado 23 de octubre 2014]; 54(11): 692-8. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
16. Chandler L. Sources of Errors in Molecular Testing. en: Dasgupta A, Sepulveda J. Accurate Results in the Clinical Laboratory. New York, Elsevier [en línea] 2013 [citado 23 de octubre 2014]; pp. 327-341. Philadelphia va Medical Center and Parelman School of Medicine at the University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania. Disponible en: <http://books.google.com/cu/books?id=HEBl0h3nxiAC&pg=PA327&lpq=PA327&dq=Sources+of+Errors+in+Molecular+Testing&source=bl&ots=CNWH8hYc0K&sig=Xaa-cmftLq5EjUyXeJsDq3sF0vc&hl=es&sa=X&ei=wiVJP7vBMfoggSFsoGgDQ&ved=0CDMQ6AEwAg#v=onepage&q=Sources%20of%20Errors%20in%20Molecular%20Testing&f=false>.
17. Villegas VE, Sánchez MC, Chuairé L. Reacción en cadena de la polimerasa y diagnóstico molecular. Colomb Med [revista en Internet] 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 40(3): 347-52. Disponible en: [MedicLatina](#).
18. Peacock O, Lee AC, Larvin M, Tufarelli C, Lund JN. MicroRNAs: Relevant Tools for a Colorectal Surgeon. World J Surg [revista en Internet] 2012 [citado 23 de octubre 2014]; 36(8): 1881-1892. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
19. Tiwari RP, Jain A, Khan Z, Kohli V, Bharmal RN, Kartikeyanet S, et al. Cardiac Troponins I and T: Molecular Markers for Early Diagnosis, Prognosis, and Accurate Triaging of Patients with Acute Myocardial Infarction. Mol Diagn Ther [revista en Internet] 2012 [citado 23 de octubre 2014]; 16(6): 371-381. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
20. Julián-Jiménez A, Zapata JT, Laserna Mendieta EJ, Sicilia-Bravo I, Palomo-de los Reyes MJ, Cabezas-Martínez A, et al. Poder diagnóstico y pronóstico de los biomarcadores para mejorar el manejo de la neumonía adquirida en la comunidad en los servicios de urgencias. Enferm Infecc Microbiol Clin [revista en Internet] 2014 [citado 23 de octubre 2014]; 32(4): 225-235. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
21. Chanjuan S, Washington K. Molecular Testing in Colorectal Cancer Diagnosis of Lynch Syndrome and Personalized Cancer Medicine. Am J Clin Pathol [revista en Internet] 2012 [citado 23 de octubre 2014]; 137(6): 847-859. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
22. Jarolim P. Overview of Cardiac Markers in Heart Disease. Clin Lab Med [revista en Internet] 2014 [citado 23 de octubre 2014]; 34(1): 1-14. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
23. Jay D, Buendía A, Medina MA, Cervantes G, García T, García EJ, et al. Diagnóstico molecular en cardiología: Cardiomiopatía hipertrófica familiar en pacientes mexicanos. Archivos de Cardiología de México [revista en Internet] 2004 [citado 23 de octubre 2014]; 74(Supl. 2): S344-S348. Disponible en: [MedicLatina](#).
24. Esserman LJ, Moore DH, Tsing OJ, Chu PW, Yau C, Ozanne E, et al. Biologic markers determine both the risk and the timing of recurrence in breast cancer. Breast Cancer Res Treat [revista en Internet] 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 129(2): 607-616. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).

25. Sokilde R, Vincent M, Moller M, Hansen A, Hoiby PE, Blondal T, et al. Efficient Identification of mirnas for Classification of Tumor Origin. *The Journal of Molecular Diagnostics* [revista en Internet] 2014 [citado 23 de octubre 2014]; 16(1): 106-115. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
26. Martínez RH, Saucedo O, González CH, Cantú-Martínez L, Montes de Oca R, Rangel-Guerra R, et al. Detección de polimorfismos en el gen Parkin como biomarcadores predictivos de la enfermedad de Parkinson. *Rev Mex Neuroci* [revista en Internet] 2004 [citado 23 de octubre 2014]; 5(1): 7-12. Disponible en: [MedicLatina](#).
27. Oropeza Fernández S, Acosta B, Piñón A, Valdés O, Savón C, Arencibia A, et al. Diagnóstico molecular del virus influenza A (H1N1) 2009 y otros virus respiratorios, durante la primera ola pandémica en Cuba. *Rev Cubana Med Trop* [revista en Internet] 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 63(2): 147-54. Disponible en: [MedicLatina](#).
28. Zepeda Castilla EJ, Recinos-Money E, Cuéllar-Hubbe M, Robles-Vidal CD, Maafs-Molina E. Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cir Ciruj* [revista en Internet] 2008 [citado 23 de octubre 2014]; 76(1): 87-93. Disponible en: [MedicLatina](#).
29. Prada Arismendy J, Castellanos JE. Real time PCR. Application in dengue studies. *Colomb Med*. [revista en Internet] 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 42(2): 243-58. Disponible en: [MedicLatina](#).
30. Satterfield BC. 2.5 Million Fold Improvement in the Reduction of Nonspecific Amplification. *The Journal of Molecular Diagnostics* [revista en Internet] 2014 [citado 23 de octubre 2014]; 16(2): 163-173. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
31. Perco P, Pleban C, Kainz A, Lukas A, Mayer G, Mayer B, et al. Protein biomarkers associated with acute renal failure and chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* [revista en Internet] 2006 [citado 23 de octubre 2014]; 36(11): 753-763. Disponible en: [Academic Search Premier](#).
32. Bosch LJW, Carvalho B, Fijneman RJA, Jimenez CR, Pinedo HM, Engeland MV, et al. Molecular Tests for Colorectal Cancer Screening. *Clinical Colorectal Cancer* [revista en Internet] 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 10(1): 8-23. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
33. De Roock W, Biesmans B, De Schutter J, Tejpar S. Clinical Biomarkers in Oncology. *Mol Diag Ther* [revista en Internet] 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 13(2): 103-114. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
34. Anderson GR, Brenner BM. Molecular markers in colorectal cancer. *The Lancet* [revista en Internet] 2002 [citado 23 de octubre 2014]; 359(9302): 183-184. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11812547>.
35. Miller S, Steele S. Novel Molecular Screening Approaches in Colorectal Cancer. *Journal of Surgical Oncology* [revista en Internet] 2012 [citado 23 de octubre 2014]; 105(5): 459-467. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
36. Deschoolmeester V, Baay M, Specenier P, Lardon F, Vermorken JB. A Review of the Most Promising Biomarkers in Colorectal Cancer: One Step Closer to Targeted Therapy. *The Oncologist* [revista en Internet] 2010 [citado 23 de octubre 2014]; 15(7): 699-731. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
37. Schmid G. The Use of Molecular Markers in the Diagnosis of Colorectal Cancer Screening. *Dig Dis* [revista en Internet] 2010 [citado 23 de octubre 2014]; 28(4/5): 625-628. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
38. Fernández-Lainez C, Vela-Amieva M, Ibarra-González I. Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. *Acta Pediatr Mex* [revista en Internet] 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 30(5): 258-63. [MedicLatina](#).
39. Martínez-Rivera M, Menéndez-González M, Calatayud MT, Pérez Piñera P. Biomarcadores para la Enfermedad de Alzheimer y otras demencias degenerativas. *Archivos de Medicina* [revista en Internet] 2008 [citado 23 de octubre 2014]; 4(3): 1-6. Disponible en: [MedicLatina](#).
40. Manrique JE, Sullcahuamán-Allende Y, Limache-García A. Asesoría genética sobre cáncer en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [revista en Internet] 2013 [citado 23 de octubre 2014]; 30(1): 118-23. Disponible en: [MedicLatina](#).
41. Kretschmer C, Sterner-Kock A, Siedentopf F, Schoenegg W, Schlag PM, Kemmner W. Identification of early molecular markers for breast cancer. *Molecular Cancer* [revista en Internet] 2011 [citado 23 de octubre 2014]; 10(1): 15. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
42. Nicholson FB, Barro JL, Atkin W, Lilford R, Patnick J, Williams CB, et al. Population screening for colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther* [revista en Internet] 2005 [citado 23 de octubre 2014]; 22(11/12): 1069-1077. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.13652036.2005.02695.x/full>.

43. Zhou L, Luo Y, Li K, Tian L, Wang M, Li C, et al. Molecular markers of therapeutic resistance in breast cancer. *Human Pathology* [revista en Internet] 2013 [citado 23 de octubre 2014]; 44(7): 1421-1428. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
44. Agrawal S, Dunsmuir WD. Molecular markers in prostate cancer. Part I: predicting lethality. *Asian Journal of Andrology* [revista en Internet] 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 11(1): 14-21. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).
45. Agrawal S, Patil KP, Dunsmuir WD. Molecular markers in prostate cancer. Part II: potential roles in management. *Asian Journal of Andrology* [revista en Internet] 2009 [citado 23 de octubre 2014]; 11(1): 22-27. Disponible en: [MEDLINE Complete](#).