

INDICE:

1. INTRODUCCIÓN: ORIGEN Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO
2. PRINCIPIOS Y ESTRATEGIAS BÁSICAS EN EL PROYECTO GENOMA
3. AVANCES RECIENTES EN EL PGH
4. GENOMAS MODELO
5. PROYECTO DE DIVERSIDAD DEL GENOMA HUMANO
6. IDENTIFICACIÓN DE LOS GENES ASOCIADOS A FENOTIPOS
7. LA ERA POSTGENÓMICA: LA PRÓXIMA REVOLUCIÓN DE LA BIOLOGÍA
8. ALGUNOS IMPACTOS EN LA MEDICINA: MEDICINA GENÓMICA Y MOLECULAR
9. ¿QUIÉN HACE INVESTIGACIÓN GENÓMICA?

1. INTRODUCCIÓN: ORIGEN Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El PGH es el primer gran esfuerzo coordinado internacionalmente en la historia de la Biología. Se propone determinar la secuencia completa (más de $3000 \cdot 10^6$ pares de bases) del genoma humano, localizando con exactitud (cartografía) los 100.000 genes aproximadamente y el resto del material hereditario de nuestra especie, responsables de las instrucciones genéticas de lo que somos desde el punto de vista biológico.

Realmente, lo que llamamos Proyecto Genoma es el término genérico con el que designamos una serie de diversas iniciativas para conocer al máximo detalle los genomas no sólo de humanos, sino de una serie de organismos modelo de todos los dominios de la vida, todo lo cual se espera que dé un impulso formidable en el conocimiento de los procesos biológicos (desde la escala molecular hasta la evolutiva) y de la fisiología y patología de los seres humanos, y que se traducirá en multitud de aplicaciones técnicas y comerciales en ámbitos como el diagnóstico y terapia de enfermedades, biotecnologías, instrumental, computación, robótica, etc.

Hacia mediados de la década de los años 80 la metodología del ADN recombinante y sus técnicas asociadas (vectores de clonación, enzimas de restricción, transformación artificial de células procariotas y eucariotas, bibliotecas de genes, sondas moleculares, secuenciación, genética inversa, PCR, etc.) habían alcanzado una madurez suficiente como para que se planteara la pertinencia y viabilidad de un proyecto coordinado de caracterización detallada (hasta nivel de secuencia de nucleótidos) del genoma humano y de genomas de una serie de organismos modelo.

La biología pretende dar respuestas lo más completas y detalladas posibles de los fenómenos vitales. Al ser el ADN la molécula universal de la herencia, y constituir la base genética de la vida, la tendencia natural ha sido terminar buscando explicaciones al nivel de ADN. Este conocimiento molecular puede dar la clave de muchos fenómenos que hoy entendemos a niveles menos profundos ya descritos por otras ciencias biológicas (fisiología, biología celular, bioquímica, etc.).

Ha llegado un momento en que se plantea que abordar el estudio detallado de los genomas de los organismos es mucho menos costoso, y más interesante intelectualmente, logrando el conocimiento detallado de la

secuencia. Pero los Proyectos Genoma no son más que un punto de arranque para nuevos descubrimientos en las ciencias biomédicas. Con los datos de secuencias habrá que trabajar para dar respuestas a cuestiones de expresión de genes, de regulación genética, de interacción de las células con sus entornos, etc.

La secuenciación de genomas de plantas y animales domésticos conducirá a nuevos avances en la mejora agronómica y ganadera.

Para comprender la evolución será cada vez más esencial el disponer de datos de secuencias. La bioinformática permite comparar genes y genomas completos, lo que junto con otros datos biológicos y paleontológicos, está dando nuevas claves de la evolución de la vida.

La principal justificación del PGH de cara a la sociedad es la promesa de avances importantes en Medicina. Aunque el estudio de las enfermedades en humanos se ha venido haciendo mayoritariamente en ausencia de su comprensión genética, la disponibilidad de técnicas poderosas anima a emprender la secuenciación sistemática, lo que suministrará un formidable impulso sobre todo para las enfermedades poligénicas y multifactoriales. Una de las consecuencias más inmediatas del PGH (y que ya se experimentan desde hace unos años) es la de disponer de sondas y marcadores moleculares para el diagnóstico de enfermedades genéticas, de cáncer y de enfermedades infecciosas. A plazos mayores, se espera que a su vez la investigación genómica permita diseñar nuevas generaciones de

fármacos, que sean más específicos y que tiendan a tratar las causas y no sólo los síntomas. La terapia genética, aunque aún en sus balbucientes inicios, puede aportar soluciones a enfermedades, no sólo hereditarias, sino cáncer y enfermedades infecciosas.

Uno de los principales objetivos es desarrollar a corto plazo tecnologías de vanguardia. Es decir, una de las principales justificaciones del PGH es la necesidad de impulsar poderosas infraestructuras tecnológicas que deben proporcionar a las instituciones, empresas y países implicados un lugar de privilegio en la investigación biomédica y en multitud de aplicaciones industriales (diagnósticos, terapias, instrumental de laboratorio, robótica, hardware, software, etc.).

Origen del Proyecto Genoma

Aunque antes de los años 80 ya se había realizado la secuenciación de genes sueltos de muchos organismos, así como de "genomas" de entidades subcelulares (algunos virus y plásmidos), y aunque "flotaba" en el entorno de algunos grupos de investigación la idea de comprender los genomas de algunos microorganismos, la concreción institucional del PGH comenzó en los EEUU en 1986 cuando el Ministerio de Energía (DOE), en un congreso en Santa Fe (NM) planteó dedicar una buena partida presupuestaria a secuenciar el genoma humano, como medio para afrontar sistemáticamente la evaluación del efecto de las radiaciones sobre el material hereditario. El año siguiente, tras un congreso de biólogos en el Laboratorio de Cold

Spring Harbor, se unió a la idea el Instituto Nacional de la Salud (NIH), otro organismo público con más experiencia en biología (pero no tanta como el DOE en la coordinación de grandes proyectos de investigación). El posterior debate público tuvo la habilidad de captar la imaginación de los responsables políticos, y ofrecer el atractivo de que no sólo el PGH era el gran emblema tecnocientífico de finales de siglo (como lo había sido el Proyecto Apollo en los años 60), sino que uno de sus fines explícitos era desarrollar tecnologías de vanguardia y conocimiento directamente aplicable (no sólo en el campo de la biotecnología) que asegurarían la primacía tecnológica y comercial del país en el siglo XXI. En 1988 se publicaron informes de la Oficina de Evaluación Tecnológica del Congreso (OTA) y del Consejo Nacional de Investigación (NRC), que supusieron espaldarazos esenciales para dar luz verde a la Iniciativa. Ese mismo año se establece la Organización del Genoma Humano (HUGO), como entidad destinada a la coordinación internacional, a evitar duplicaciones de esfuerzos, y a diseminar el conocimiento. El comienzo oficioso del PGH corresponde a 1990, y se calcula que terminará el 2005. Sus objetivos eran elaborar en una primera etapa mapas genéticos

y físicos con suficiente resolución, mientras se ponían a punto técnicas más eficientes de secuenciación, de modo que en la fase final se pudiera abordar la secuenciación de todo el genoma humano. Entre los objetivos se cuentan

igualmente la caracterización y secuenciación de organismos modelo, y la creación de infraestructura tecnológica, entre la que destacan nuevas herramientas de hardware y software destinadas a automatizar tareas, a procesar la enorme cantidad de datos que se esperan, y a extraer la máxima información biológica y médicamente significativa.

Aunque en un principio se calculó que el PGH americano costaría unos 3000 millones de dólares y duraría 15 años, tanto el coste como los plazos han tenido que ser estimados a la baja, debido a innovaciones tecnológicas que abaratan y acortan la investigación. Los fondos federales estadounidenses dedicados hasta ahora (1998) al PGH ascienden a 1.9 mil millones de dólares (casi 300.000 millones de pesetas).

En 1993 los fondos públicos para el PGH fueron 170 millones de dólares, mientras que la industria gastó 80 millones. Conforme pasa el tiempo, la inversión privada se está haciendo más importante, e incluso amenaza con adelantarse a los proyectos financiados con fondos públicos. Recientemente (mayo de 1998), la empresa TIGR anunció la creación de un proyecto conjunto con Perkin-Elmer (fabricante de secuenciadores automáticos) que podría conducir a terminar por su cuenta la secuencia humana a un coste equivalente a la décima parte del proyecto público y con unos plazos más breves.

2. PRINCIPIOS Y ESTRATEGIAS BÁSICAS EN EL PROYECTO

PROYECTO GENOMA

Tras las propuestas iniciales, que partieron del ministerio de energía de los EEUU (DOE), al que enseguida siguieron los Institutos Nacionales de la Salud (NIH), quedó claro que este magno proyecto no podía consistir en la secuenciación pura y dura, sino que habría de constar de varias etapas encadenadas, comenzando por la elaboración de mapas genéticos y físicos de resolución cada vez mayor. Además, la secuenciación habría de centrarse en principio en las zonas de ADN más interesantes a priori, como

las regiones génicas codificadoras, dejando para una etapa ulterior el análisis del enorme contenido de ADN repetitivo de distintas clases que existe en el genoma.

Simultáneamente había que ir desarrollando toda una infraestructura de técnicas instrumentales y de análisis de la información generada (programas informáticos potentes para gestionar las secuencias y extraer sentido biológico de ellas, nuevos algoritmos, redes de ordenadores interconectados, bases de datos entrelazados, etc.).

Cartografías genómicas

El PGH hace uso de dos tipos de cartografía para caracterizar el genoma, aunque en última instancia los mapas emanados de los distintos métodos han de ser correlacionados e integrados: cartografía genética de ligamiento, y cartografía física.

Cartografía genética de ligamiento

La cartografía genética se basa en el cálculo de la frecuencia a la que se co-heredan formas alternativas (alelos) de dos loci genéticos que están ligados formando parte de un mismo cromosoma. Hasta el advenimiento de las técnicas moleculares, los mapas genéticos de ligamiento en humanos eran bastante rudimentarios, ya que en su elaboración no puede intervenir (por obvios motivos éticos) la experimentación de laboratorio que se usa en animales, y porque los datos habían de basarse casi exclusivamente en la

comparación de fenotipos normales y los mutantes correspondientes a determinadas enfermedades genéticas, y en el recurso a análisis

de familias, a ser posible con registros de varias generaciones y con gran número de individuos.

La revolución de la cartografía genética de ligamiento sobrevino cuando a finales de los años 70 se recurre al análisis molecular de zonas de ADN no codificadoras y que son muy polimórficas: existen varios tipos de secuencias (algunas de ellas de naturaleza repetitiva, como los VNTR, los microsatélites, etc.), dispersos por el genoma, cada uno de ellos con varios alelos en el ámbito poblacional. Entre las ventajas de los microsatélites se cuentan: contenido informativo muy alto, con lo que los análisis estadísticos mejoran en fiabilidad; distribución abundante y relativamente

uniforme por todo el genoma; y que se pueden ensayar fácilmente mediante PCR.

Además, estos loci genéticos sirven en genética clínica como marcadores útiles para localizar genes relacionados con enfermedades. Los polimorfismos moleculares han permitido que en la actualidad el PGH haya generado detallados mapas genéticos del genoma humano a un nivel de resolución en torno a 1 centimorgan (cM) o incluso menos. Esto ya se logró en 1994, un año antes de lo previsto, y en buena parte con resoluciones mejores (0.7 cM).

Cartografía física e integración de los mapas

Los mapas físicos tienen como objetivo especificar distancias físicas mensurables en pares de bases (pb) o alguno de sus múltiplos. Obviamente, el mapa físico de mayor detalle es la propia secuencia del genoma. Pero antes de llegar a obtenerla, hay que elaborar mapas físicos partiendo de resoluciones bajas y avanzando hacia las resoluciones cada vez mayores. En cierta manera, los mapas físicos de menor resolución son los propios cariotipos: la visualización microscópica de la dotación cromosómica haploide humana teñida con colorante de Giemsa nos muestra un patrón

alternante de bandas claras y oscuras, en el que cada banda tiene una media de unos 7 millones de pares de bases. Si bien los métodos citogenéticos tienen sus limitaciones, no hay que olvidar que actualmente existen novedosas herramientas de citogenética molecular (como las sondas fluorescentes in situ o FISH, la "pintura de cromosomas", etc.) que permiten un mayor detalle y que, unidas a otras técnicas aumentan el arsenal de enfoques para el estudio de los genomas, de su dinámica y de

sus alteraciones.

Los mapas físicos de mayor resolución se suelen elaborar a partir de genotecas (bibliotecas de genes) en las que el genoma a estudiar se encuentra fragmentado en multitud de trozos aleatorios y desordenados, cada uno de ellos clonado por separado en un vector adecuado: plásmido, cósmido, cromosomas artificiales de levadura (YAC), cromosomas artificiales de bacteria (BAC), etc. . La idea para elaborar los mapas físicos es en cierto modo similar a la de ensamblar un rompecabezas: consiste

en ordenar los fragmentos del genoma a base de buscar grupos de fragmentos que tienen alguna zona en común, es decir, ir hallando conjuntos de pares de fragmentos parcialmente solapados. Ello conduce al concepto de contig: un contig (o cóntigo, como algún autor español ha traducido) es un conjunto de fragmentos de un genoma que se han clonado por separado, pero que son contiguos y que están parcialmente solapados. Los actuales mapas físicos han de recurrir pues al ensamblaje de esos

fragmentos dentro de un contig, y ulteriormente, los distintos contigs correspondientes al mismo grupo de ligamiento han de ser ensamblados entre sí: el objetivo final (ideal) sería obtener un gran contig por cada cromosoma, que describiera detalladamente la posición y distancia física (en bases) de y entre distintos

marcadores (representados, p. ej. , por dianas para enzimas de restricción).

La cartografía de contigs se puede realizar buscando la "huella dactilar" común a distintos clones de una genoteca de ADN humano. Dicha

huella puede consistir en un patrón compartido de dianas de enzimas de restricción (que se puede indagar ayudándose de algoritmos y programas computacionales adecuados). Las estrategias más recientes hacen uso de ADN humano en forma de unos 20.000 trozos independientes clonados en los llamados cromosomas artificiales de levadura (YAC, de sus iniciales inglesas), y buscando la "huella dactilar común" entre clones a base de

la detección de determinadas secuencias repetitivas. Todo el procedimiento está altamente automatizado, como en el famoso laboratorio francés del Génethon, provisto de varios robots especializados en procesar y analizar las muestras.

El último gran hito en cuanto a metodología de mapas físicos ha sido el desarrollo de una especie de "marcadores físicos universales", fácilmente generables, que permiten que los datos obtenidos en un laboratorio sean rápidamente compartidos y asumidos por toda la comunidad investigadora: se trata de los llamados "lugares etiquetados por su secuencia" (STS en inglés). Consisten en trechos cortos de ADN (de entre 100 y 1000 pb) cuya secuencia exacta se conoce y se sabe que es única en todo el genoma.

Su facilidad de uso y su aceptación como "lenguaje común" estriba en que una vez que un investigador descubre una STS, cualquier otro puede obtenerla por sí mismo (ni siquiera hace falta el envío físico de muestras), simplemente fabricando in vitro los cebadores correspondientes a sus extremos y amplificando la STS por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los STS definen puntos concretos únicos del mapa físico, y constituyen magníficos "mojones" o balizas fácilmente detectables.

Uno de los objetivos iniciales del PGH era la obtención de mapas físicos con unas 30.000 balizas repartidas de modo más o menos uniforme, de modo que cada dos marcadores consecutivos estén separados una media de 100 kb. Este objetivo se acaba de cumplir, en buena parte debido al empleo de los STS, que permiten elaborar mapas de contigs según el contenido de STS de los clones solapados. Estos mapas de STS permiten la integración de los mapas genéticos y físicos, hacen accesible la fase de secuenciación y facilitan la clonación de genes implicados en enfermedades mediante la llamada estrategia del candidato posicional.

Una vez que se construyen los mapas, hay que refinarlos y purgarlos de posibles errores. Los errores suelen tener dos fuentes principales: algunos clones YACs son en realidad híbridos o quimeras producidas por artefactos durante el proceso de elaboración de la genoteca, y por lo tanto su mapa no refleja el orden genómico auténtico; y por otro lado, los programas de ensamblado de los mapas no son fiables al 100%. De ahí la importancia de confirmar normalizar los datos mediante estrategias aceptadas por todos los investigadores.

Dentro del PGH se está abordando un enfoque paralelo y complementario consistente en secuenciar los denominados EST (lugares etiquetados expresables). Se parte de muestras de ARN mensajero aisladas de los distintos tipos de células y tejidos del cuerpo humano, se realiza por transcripción inversa (con reversotranscriptasa) copias de ADN, y se procede a su secuenciación. Ello rinde versiones no genómicas, desprovistas de las porciones intrónicas, de los distintos genes que se expresan en los diferentes tejidos. Los datos obtenidos se integran en "mapas funcionales" que muestran el patrón de expresión diferencial según su localización anatómo-histológica.

Secuenciación de ADN complementario (ADNc)

No es una alternativa, sino un complemento a la secuenciación genómica. No es el gen lo que estamos

secuenciando, sino la "retrocopia" de su ARNm obtenida por reversotranscripción, desprovisto de intrones y secuencias reguladoras no traducidas.

Si bien la secuenciación de ADNc no nos da información de la estructura del gen, sí nos la puede dar sobre su expresión: en qué tejidos se expresa, bajo qué condiciones, etc., lo que permite iniciar mapas funcionales del genoma humano.

Nuevas estrategias de secuenciación genómica

Recientemente se ha propuesto una estrategia de secuenciación genómica que no depende de previos mapas físicos, y que en lugar de YACs emplea otro tipo de vectores, los cromosomas artificiales de bacteria (BACs),

que aunque permiten insertos de entre 100 y 350 kb, tienen la gran ventaja de aceptar insertos genómicos con gran fidelidad (sin quimerismos ni apenas reordenaciones del material insertado). La estrategia consiste en lo siguiente:

- 1.) Se crea una genoteca humana de BACs, con un tamaño medio de 150 kb, y una redundancia de 15 veces, de modo que consta de unos 300.000 clones. Los clones de la genoteca se reparten en pocillos de placas de microtitulación.
- 2.) Se secuencian unas 500 bases en cada uno de los dos extremos del inserto de cada clon. Esto significa que las 600.000 secuencias de los extremos de los clones están repartidas a razón de una cada 5 kb de genoma, y constituyen el 10% de la secuencia genómica.
- 3.) A estas secuencias se las denomina STCs, acrónimo inglés de "conectores" etiquetados por su secuencia, ya que permiten que por término medio cada clon BAC pueda ser conectado con otros 30 (un inserto típico de 150 kb dividido por 5 kb, estará representado en otros 30 BACs). Las secuencias de las STCs se pondrían enseguida en Internet, a disposición de la comunidad investigadora.
- 4.) Se toma la "huella dactilar" de cada clon BAC, con una enzima de restricción.
- 5.) Un clon BAC que actúa de semilla se secuenciar por cualquier método, y se compara con la base de datos de STCs para identificar los clones solapados.
- 6.) Se secuencian los dos clones BAC que muestren consistencia interna entre las huellas dactilares y solapamiento mínimo en ambos extremos con respecto al BAC semilla.
- 7.) El proceso se va reiterando a ambos lados del BAC semilla (lo que podríamos llamar "paseo genómico con BACs").
- 8.) De esta manera, el genoma humano completo se podría secuenciar con sólo 20.000 clones BAC.

Aunque la estrategia es muy atractiva por su aparente rapidez y menor costo (se estima que en dos años 30 secuenciadores de última generación podrían obtener esas 600.000 STCs, con un desembolso de menos de 10 millones de dólares), tiene varios inconvenientes, entre ellos el que obliga a mantener uno o varios centros depositarios de las placas con los clones BACs, y al envío de clones entre laboratorios. Dado que el PGH ha funcionado muy bien hasta ahora de modo descentralizado, es posible que

haya reticencias en grupos que vean amenazada la actual cuasi-democracia investigadora.

El papel de la informática en los proyectos genoma

La informática ha sido uno de los objetivos esenciales del PGH, debido a la gigantesca cantidad de datos que hay que recoger, analizar, comparar, interpretar y distribuir. La informática aplicada a la biología presenta dos subdisciplinas: la bioinformática en sentido estricto, que se puede definir como el trabajo de investigación y desarrollo que se necesita como infraestructura de información de la actual biología; y la biología computacional, que es la investigación dependiente de computación dedicada a entender cuestiones biológicas básicas. El término bioinformática, en sentido lato, comprende estos dos grandes aspectos. Estamos ante un nuevo campo interdisciplinario, en la interfase entre ciencias de la computación, matemáticas y biología.

Las cuestiones de gestión de datos que plantea el PGH suponen un auténtico "revulsivo" para la informática. Aunque para algunas de las tareas se puede recurrir a enfoques tradicionales, con sólo aumentar la escala del procesamiento, para otros problemas se necesitan arquitecturas y programas informáticos totalmente diferentes.

Adquisición informatizada de datos biológicos

La adquisición de datos experimentales por métodos digitales está espoleando a la industria a diseñar y fabricar aparatos cada vez más sofisticados, que mejoran y aceleran la parte más rutinaria de la investigación. Para ello los aparatos incorporan sistemas computerizados de análisis y tratamiento de imagen visible. Piénsese en los secuenciadores automáticos de ADN o en la tecnología del chip de ADN.

El ensamblaje automático de mapas y secuencias es otra tarea que plantea

numerosos e interesantes problemas a las ciencias de la computación, que han de hacer uso de nuevos algoritmos y estrategias en las que tener en cuenta los posibles errores.

Predicción de secuencias codificadoras, dominios funcionales y otras zonas

interesantes del genoma: Aunque se disponen de programas a tal efecto (GRAIL, FASTA, etc.), se requieren nuevos algoritmos capaces de predecir patrones especiales de secuencia dentro de genomas completos. Se están ensayando aproximaciones derivadas de las redes neurales neuromiméticas).

Construcción de árboles filogenéticos: En principio se viene realizando a base de comparar determinados genes entre pares de organismos, mediante algoritmos de alineamiento de secuencia, pero habrá que mejorar los métodos, incluyendo una adecuada evaluación del grado de fiabilidad de los árboles.

Bases de datos genéticos y moleculares

La gigantesca cantidad de datos generados en los proyectos genoma obliga a abandonar la "Galaxia Gutenberg" a la hora de publicar los datos: su difusión se hace por medios electrónicos, depositándolos en bases de datos públicos. El ritmo de acumulación de datos es vertiginoso, y actualmente se duplican en menos de un año.

Los biólogos del siglo XXI usarán esas bases de datos como un recurso indispensable de su trabajo cotidiano. En la actualidad funcionan principalmente dos tipos de bases de datos genómicos:

*El Consorcio Internacional de Bases de Datos de Secuencias está formado por GenBank, el Banco de datos de ADN de Japón (DDBJ) y el del EMBL. Alberga los datos de secuencias. Las tres bases comparten y complementan la información. En España existe un nodo de EMBL residente en el Centro Nacional de Biotecnología (CNB) de Madrid.

*La Genome Data Base (GDB) se estableció para albergar los datos de mapas y relacionados (sondas, marcadores, etc.).

Actualmente la base de datos bibliográfica MEDLINE (mantenida por la NML estadounidense) está vinculada con las bases de datos genéticos y de secuencias. Por ejemplo, se puede hacer una búsqueda desde MEDLINE con palabras clave de una enfermedad, lo que da acceso a OMIM (Herencia mendeliana on-line), con referencias bibliográficas, y de ahí se puede saltar a los mapas genéticos, físicos y las secuencias, si están disponibles.

En 1993, un taller recomendó profundizar en la coordinación entre los distintos bancos informatizados. Las diferencias en la estructura de las bases de datos y en su nomenclatura hacen que un investigador que trabaje con un gen o una proteína de una especie tenga difícil acceder a la información de genes homólogos de otras especies.

Los expertos en bioinformática están tratando de desarrollar estándares y nombres comunes, y de establecer vínculos entre ellos, de modo que cuando los investigadores busquen información en una base de datos, automáticamente la encuentren vinculada con otras bases depositarias de otros datos. Internet y los lenguajes informáticos dedicados al WWW pueden venir a ayudar, al hacer fácil crear vínculos entre bases de

datos diferentes ha abierto el camino a la diseminación del enfoque basado en "federaciones de pequeñas bases de datos". Basta definir hipervínculos activos (hipertexto) para vincular datos relevantes entre distintas bases. Pero para hacer frente al diluvio de datos tales hipervínculos tendrán que ser creados automáticamente por el software de la base de datos. Ello obliga a ponerse de acuerdo sobre la nomenclatura y los formatos compatibles. El famoso lenguaje Java, creado para Internet, parece que

puede desarrollarse en una buena herramienta para entrecruzar de modo inteligente todas las bases de datos biológicos.

"Las tres culturas" de la biología genómica

En la biomedicina de la era genómica y postgenómica se requiere, como se está viendo, un alto grado de interdisciplinariedad e integración entre distintos profesionales. Es lo que Benton (1996) ha llamado –parafraseando a C.P. Snow– el problema de las tres culturas: los biólogos querrán que los informáticos les suministren soluciones a sus problemas de gestión de datos, los matemáticos y expertos en computación andarán detrás de problemas intelectualmente llamativos, y los ingenieros pedirán a los dos grupos anteriores que les suministren especificaciones bien concretadas para que ellos puedan desarrollar su trabajo. Los distintos expertos habrán de acostumbrarse a emplear vocabularios y lenguajes comunes y a entender

(sin minusvalorar) los problemas de los demás. En numerosas universidades empiezan a impartirse enseñanzas (de pregrado o postgrado) de bioinformática y biocomputación. En muchos casos se trata de que los estudiantes o profesionales de especialidades tradicionales completen su formación con la parte con la que no están familiarizados.

Por lo que respecta a los biólogos, habrán de trabajar en entornos tremendamente ricos en información, manejarán con soltura las bases de datos, y extraerán conocimiento biológicamente significativo. Los nuevos datos obligarán a elaborar nuevas hipótesis en muchos ámbitos de las ciencias de la vida, que sugerirán nuevos tipos de experimentos, estableciéndose una retroalimentación fructífera entre la biología in silico y la tradicional biología in vivo e in vitro. Las Ciencias Biológicas darán un salto no sólo cuantitativo, sino que probablemente entraremos en un nuevo

paradigma de investigación, en el que contemplaremos los fenómenos vitales no sólo desde un punto de vista molecular, sino de integración entre sus diversos niveles de complejidad.

3. AVANCES RECIENTES EN EL PGH

Lo que a finales de 1989 era un proyecto que algunos tachaban de loco, por lo caro, superfluo y utópico que parecía, es ahora una realidad deseada y aceptada por todos, que se terminará probablemente antes de lo esperado (2005) y que costará mucho menos de lo previsto. Veamos algunos hitos en el avance del PGH:

*En 1987 se construyeron mapas genéticos de ligamiento usando polimorfismos de tipo RFLP, con una resolución aún baja: 10–15 cM.

*El primer mapa genético de ligamiento del Génethon (1992), que ya recurrió a microsatélites, supuso una revolución inmediata en el análisis de ligamiento de las enfermedades con base genética. Su resolución media ya era de 5 cM.

*La tercera versión del Génethon se publicó en 1996, y ya contenía unos 5000 marcadores microsatélites, separados los consecutivos una media de 0.7 cM (aprox. 700 kb), lo cual ya supera el nivel de detalle especificado en uno de los objetivos para el primer lustro del PGH.

En los últimos años se ha avanzado más en los mapas físicos. En septiembre de 1995 Nature publicó un Directorio del Genoma Humano que incluía un mapa de contigs de YACs que cubría 75% del genoma. Hudson publicó un mapa físico preliminar del 94% del genoma, abarcado por unos 15.000 marcadores.

Un problema con los YACs es su elevado quimerismo, por lo que hay que complementar los mapas de contigs. Es lo que hizo el Whitehead Institute a finales de 1995, con la publicación en Science del mapa basado en STS que incorpora datos de híbridos de radiación (RH).

El PGH pretendía balizar el genoma humano con unas 30.000 STSs repartidas de modo más o menos uniforme, de modo que cada par de STSs contiguas están separadas por una media de 100.000 pb. Este objetivo acaba de cumplirse, y señala el punto de partida para la fase final del Proyecto, ya que a partir de aquí la secuenciación queda expedita de forma ordenada y significativa, y los datos pueden ser correlacionados con el mapa genético.

Una consecuencia casi inmediata de estos avances en cartografía es que la

localización, aislamiento (por la llamada clonación del candidato posicional) y caracterización de genes concretos relacionados con enfermedades se acelera y simplifica, haciendo que el coste presupuestario se abarate notablemente en comparación con los esfuerzos tradicionales en que cada laboratorio luchaba por separado durante largos años para lograr clonar algún gen de interés.

Una vez completadas las dos primeras fases del PGH (mapas físicos y genéticos de suficiente resolución), el presente año de 1997 va a marcar el asentamiento de la fase clave del PGH, ya que la madurez de los mapas obtenidos hasta ahora y los avances y bajos costes en las tecnologías de secuenciación y procesamiento de datos suponen que se pueda dar luz verde a la obtención masiva de secuencias de forma sistemática y organizada. Las secuencias van siendo puestas de modo prácticamente inmediato a disposición de la comunidad investigadora por medio de varias bases de datos entrelazadas dentro de Internet. Se espera que la secuencia virtualmente completa del genoma humano, está disponible antes del 2005 (se habla del año 2002).

El ritmo de acumulación de secuencias de ADN es vertiginoso, y ya se dobla cada pocos meses. Actualmente se estima que ya se ha secuenciado casi un 2% de genoma humano, pero este dato no debe engañar: con las técnicas y ritmos actuales, en los próximos años se obtendrá una tasa de 500 Mb por año.

Los costes de secuenciación siguen bajando. En algunos laboratorios cada par de bases de secuencia definitiva está en 30 centavos de dólar, y se espera que pronto baje a 10 centavos.

Ahora, el reto de la fase final del PGH es obtener secuencias del modo más rápido, barato y preciso. Para ello, se están diseñando métodos de alto rendimiento, lo más automatizados posibles.

4. PROYECTO DE DIVERSIDAD DEL GENOMA HUMANO

Lucca Cavalli-Sforza, un prestigioso genético especializado en estudio de poblaciones humanas, está impulsando la idea de realizar una investigación destinada a comprender la variación genética humana y a reconstruir la historia de las poblaciones humanas en los últimos 100.000 años de nuestra especie. Este Proyecto de Diversidad del Genoma Humano (PDGH) imbricaría una diversidad de disciplinas (genética, arqueología, lingüística, antropología, etc.) para dar cuenta de la evolución reciente de la humanidad, reconstruir las grandes migraciones de grupos, la distribución de las poblaciones y culturas, etc. Una de las estrategias consistirá en la

toma de muestras de ADN de una serie de poblaciones y etnias, con ulterior estudio comparativo de polimorfismos moleculares. Se pretende estudiar muestras correspondientes al 10% de las 5000 poblaciones lingüísticas diferenciadas que existen, con el objeto de ver si existen correlaciones (y en su caso, cómo se han producido) entre la diseminación cultural y la genética. Según sus impulsores, el PDGH daría una rica visión de la variedad de recursos genéticos de nuestra especie, y junto con los datos del PGH convencional, facilitaría la comprensión del fundamento genético

de la susceptibilidad o resistencia a distintas enfermedades, incluidas las infecciosas, comprender mejor el papel de la selección y el de la deriva genética.

Algunos colectivos y medios de comunicación han lanzado acusaciones de "racismo" contra este Proyecto, pero para Cavalli-Sforza nada está más lejos de sus propósitos. De hecho, piensa que con él se va a llamar la atención las reclamaciones de ciertas tribus para que se les ayude a sobrevivir y conservar sus culturas. Ningún genético serio actual (y menos una autoridad en la materia como Cavalli-Sforza) mantiene la idea de que la especie humana esté separada en razas, ni mucho menos que de los datos genéticos se puedan derivar planes políticos. Un comité de la UNESCO está emitiendo informes para que el PDGH se amolde a una serie de criterios éticos y sociales. Los principales temas que se están evaluando son:

Consentimiento informado a los individuos y poblaciones implicados. El PDGH contiene, según los miembros del comité de la UNESCO, algunas de las medidas más detalladas y sofisticadas que se hayan propuesto nunca para obtener ese consentimiento informado.

Comercialización de los posibles resultados de la investigación: la UNESCO recomienda que este tema forme parte de las cláusulas del consentimiento informado y de acuerdos de cooperación. Es decir, se prevé que parte de los beneficios económicos reviertan en las comunidades indígenas. Sin embargo, este tema de la "prospección genética" (bioprospección) requiere aún mucha discusión para ser clarificado. El tema de las posibles patentes sobre genes útiles que se pudieran encontrar es delicado. La opinión personal de Cavalli-Sforza es que no se permitan, o en todo caso, que sus beneficios reviertan a la población donadora que permitió la identificación del gen.

La financiación debería ser pública y de entidades sin ánimo de lucro. No se debe aceptar la financiación de empresas, para evitar todo posible conflicto de intereses.

Eugenesia y racismo.

El racismo es una actitud mental, no una consecuencia de ningún dato biológico. Hay que tomar medidas para evitar que nadie saque conclusiones sociales y políticas de meros datos de polimorfismos genéticos en las poblaciones humanas.

En la oposición contra el PDGH ha influido algún lamentable caso de "bioprospección" (no relacionado con el Proyecto), que ha servido de munición a ciertos grupos ecologistas y de apoyo a tribus. Por ejemplo el RAFI (Fundación Internacional para el Avance de las comunidades Rurales) ha desplegado una campaña para divulgar "los peligros de PDGH", pidiendo que no se lleve a cabo. Los miembros de RAFI llamaron la atención del hecho de la concesión de patente sobre unas células resistentes al virus HTLV-1 derivadas de la tribu Hagahai de Papúa-Nueva Guinea.

Hay empresas farmacéuticas que están realizando "bioprospección" en poblaciones aisladas, las cuales presentan la ventaja de que su menor polimorfismo genético puede ayudar a encontrar la explicación sobre base de resistencias o sensibilidades a ciertas enfermedades. Por ejemplo, se está

intentado identificar genes de sensibilidad al asma en una pequeña población altamente endogámica de la isla de Tristan da Cunha.

5. IDENTIFICACION DE LOS GENES ASOCIADOS A FENOTIPOS

Cuando se tiene información bioquímica sobre un rasgo monogénico, es posible en principio diseñar alguna estrategia para seleccionar el gen correspondiente de la genoteca, lo que se ha llamado clonación funcional. Este es el caso del factor VIII de coagulación.

Clonación posicional

La clonación funcional no siempre es posible. Cuando, como ocurre con la gran mayoría de enfermedades genéticas, se desconoce la base bioquímica del rasgo, hay que recurrir a otras estrategias, a menudo laboriosas. Como ejemplo, la clonación posicional de genes de enfermedades: consiste en ir estrechando el cerco al gen a partir de su localización cromosómica (genética inversa). La clonación posicional era una estrategia ya empleada antes del PGH:

1.) Se parte de una colección de pedigrís en la que se ve la cosegregación del rasgo mutante respecto a múltiples marcadores genéticos polimórficos. En humanos, lo ideal es que la separación entre marcadores no sea mayor de 1cM. Luego, por paseo o salto cromosómico, se va uno acercando al gen.

2.) Identificación del gen mediante una serie de técnicas:

a.) Zoo-blots

b.) Islas de CpG sin metilar

c.) Selección de ADNc

d.) Atrapamiento de exones

Ejemplos de genes aislados por clonación posicional:

Fibrosis quística

Distrofia muscular de Duchenne

Neurofibromatosis tipo 1

Alzheimer familiar

Cloroidemia.

Análisis de genes candidatos

Se han aislado muchos genes por clonación posicional, pero la mayoría de ellos sobre la base de mutaciones de delección, translocación o amplificaciones de trinucleótidos.

La clonación posicional a partir de mutaciones puntuales es más ardua, y suele requerir muchos marcadores cercanos al gen y una cartografía fina de desequilibrio de ligamiento. Por ello, se recurre a otra estrategia: enfoque del candidato posicional: se usa información disponible sobre función y posición en el mapa de genes previamente aislados, información que puede proceder de otros proyectos genoma o de ESTs/ADNc.

Tras obtener un ADNc más largo, se vio ese era el correspondiente al gen en cuestión.

*Gen de la retinitis pigmentosa.

*Síndrome de Marfan.

*Cardiomiopatía hipertrófica familiar

*Atrofia muscular espinal y bulbar

*Síndrome de Waardenburg

*Esclerosis lateral amiotrófica.

Este tipo de estrategia se hará cada vez más importante conforme avance el PGH. En el futuro, cuando se asigne un nuevo rasgo a una nueva posición específica del mapa, será posible interrogar a las bases de datos genómicas, y obtener para esa porción genómica una lista de los otros genes asignados a esa región. Las características de los genes se compararán entonces con las características del rasgo para encontrar el candidato más verosímil.

En resumidas cuentas, el PGH va a simplificar y abaratar la búsqueda de genes relativos a enfermedades mediante estrategias de clonación posicional.

Predicción y análisis de genes mediante bioinformática

Conforme avanza el PGH, se hace cada vez más importante la predicción de genes por medio de bioinformática: Algunos métodos:

* Predicción de genes a partir de secuencias mediante programas como el GRAIL.

* Búsquedas de similitudes (BLAST, FASTA).

*Comparación con secuencias de organismos modelo.

* ESTs.

* Perfiles de secuencia y modelos de Markov ocultos.

La bioinformática tiene ante sí un formidable reto, dado el diluvio de datos que está cayendo en las bases de datos. Habrá que desarrollar nuevos y potentes algoritmos, y de aplicar buenas estrategias de ingeniería y

gestión de la información, capaces de sacar provecho a los datos e integrarlos para darles sentido biológico, según los programas de investigación que cada centro o grupo se plantee.

Estudio de rasgos complejos y cuantitativos

Los rasgos complejos (poligénicos) se pueden clasificar como rasgos discretos (medidos según un resultado específico: diabetes, infarto de miocardio) o como rasgos cuantitativos (medidos por una variable continua). Son estos rasgos los que plantean más problemas a la hora de adscribirlos a los genes correspondientes, pero ya hay varias estrategias para estudiarlos.

Métodos de rastreo de genomas

Sería ideal contar con métodos capaces de rastrear genomas completos en busca de secuencias relacionadas con un determinado rasgo complejo. Citemos algunos intentos:

- * Rastreo genómico de malos emparejamientos (GMS).
- * Rastreo por rotura enzimática de malos emparejamientos (EMC).

6. LA ERA POSTGENÓMICA: LA PRÓXIMA REVOLUCIÓN DE LA BIOLOGÍA

Desde el punto de vista de la práctica de la biología básica, el proyecto genoma está acentuando un par de tendencias que ya se dejaban sentir en los últimos años: por un lado la necesidad de formar nuevos tipos de biólogos capaces de tender puentes entre varias disciplinas, que se muevan con comodidad en un entorno de ordenadores, autopistas de información y gigantescas bases de datos e imágenes; y por otro lado, la

reorganización de los laboratorios e institutos de investigación, donde interaccionen especialistas en diversos ámbitos de las Ciencias de la Vida, matemáticos, informáticos, químicos, etc.

No hay que olvidar que lo que entendemos por Proyecto Genoma consiste en principio en la obtención de información estructural más o menos en bruto, pero lo realmente importante empieza después (en realidad, simultáneamente): dar sentido biológico, tanto funcional como evolutivo a tal cúmulo de información, es decir, extraer auténtico conocimiento. La "orgía de datos" que se nos viene encima habrá de ser "digerida"

adecuadamente, impulsando nuevos avances a base de sugerir nuevos enfoques, nuevos experimentos, renovadas hipótesis de trabajo, todo ello retroalimentándose en un "circulo virtuoso" que abrirá las puertas de una nueva era en las Ciencias Biológicas. Se habla por ello de una "Era Postgenómica", en la que se irán integrando los conocimientos acumulados en diversos "Atlas" del ser humano y de otros seres vivos, en los que se podrán interrelacionar de modo funcionalmente significativo diversos niveles de comprensión de la materia viva: génico, genómico, regulación,

biología celular, fisiología, evolución, etc. El impacto real de todo ello no se puede prever, pero no cabe duda que el PGH sienta las bases de un salto cualitativo y cuantitativo en nuestra visión del mundo vivo.

En la era post-genómica habrá muchas tareas por hacer:

*Identificación de las variantes alélicas más comunes de los genes humanos. Se trata de formar una especie de catálogo con las variantes alélicas más frecuentes (denominadas isotipos) de los genes humanos. Se calcula que para encontrarlas bastará re-secuenciar las regiones codificadoras de unos 100 individuos tomados al azar, y ello se podría llevar a cabo rápidamente con la técnica del chip de ADN. Correlacionando esas variantes con la incidencia de enfermedades, se podrá dar un salto adelante para identificar genes de susceptibilidad a numerosas enfermedades (y esto, sin recurrir a los clásicos y complejos estudios con "sagas

familiares"). Se abre un campo inmenso a lo que podríamos llamar estudios epidemiológicos a base de genética de poblaciones, con la ayuda de las herramientas genómicas.

*Avances en los estudios evolutivos por comparación de genomas completos de diversos organismos. Tendremos a nuestro alcance la comprensión de multitud de aspectos insospechados de los más de 3000 millones de años de evolución.

*Se aclararán filogenias completas, se estudiarán familias de genes y proteínas, viendo cómo sus miembros varían y adquieren nuevas funciones en distintos linajes; se aclararán mecanismos genéticos evolutivos, etc.

*Estudios de "transcriptoma", es decir, entender cómo, cuándo y por qué se activan o se silencian distintos juegos de genes, en función del tipo celular, del tiempo, de los estímulos, etc. La comprensión de los circuitos de regulación según la fase de desarrollo del organismo y el órgano/tejido es uno de los retos de la fase post-genómica en la que ya estamos. Los proyectos genoma de ciertos organismos modelo (levadura, *Caenorhabditis*, mosca del vinagre, incluso ratón) prevén la obtención de miles de mutantes, de modo que virtualmente se disponga de razas inactivadas para cada gen concreto (razas noqueadas genéticamente, K.O.); de ese modo se podrán comprobar los fenotipos resultantes, a distintos niveles, permitiendo aclarar la función genética.

*Igualmente se pueden emplear técnicas de disrupción transitoria de la función genética (como los oligonucleótidos antisentido y las ribozimas) para estudiar la expresión de genes no susceptibles de analizar mediante la transgénesis inactivadora en línea germinal.

Un ejemplo de este tipo de estudios está en un trabajo aparecido recientemente (9 de abril de 1998) en "Nature" (vol. 392, pp. 608-611). En él, miembros de la empresa Lexicon Genetics describen la aplicación de un método de mutagénesis en células madre embrionarias (ES) de ratón, que permite obtener miles de mutantes "marcados" con una etiqueta genética, de modo que luego se puede identificar el gen alterado y estudiar su función.

*Estudios de "proteoma": seguimiento de la expresión al nivel de traducción y post-traducción en cada tipo celular, y en función de nuevo de la fase de desarrollo y de las señales recibidas por la célula. Uno de los retos es automatizar y hacer más sencilla la técnica de geles bidimensionales, y a ser posible fusionarla con alguna técnica espectroscópica para caracterizar los cientos o miles de proteínas de cada muestra, e incluso las interacciones entre proteínas.

Un atisbo de lo que puede ser esta era post-genómica del PGH la tenemos ya con la levadura, una vez finalizada la secuenciación de su genoma:

Tras la finalización del proyecto genoma de levadura

Generación de mutantes de delección específicos: Es perfectamente factible

emprender la delección sistemática de todos y cada uno de los 6000 genes. Para ello se ha diseñado una de disrupción génica dirigida por PCR y que aprovecha la eficiencia y precisión del sistema de recombinación mitótica del organismo. El método permite la sustitución de cualquier gen de la levadura, incluyendo las razas industriales. Se pretende obtener una biblioteca de 6000 razas de delección, una por cada ORF o gen, y en la que cada cepa estará marcada con un oligonucleótido, a modo de código de barras molecular identificador.

Análisis fenotípico cuantitativo: análisis de control metabólico (MCA) de arriba abajo.

El transcriptoma El transcriptoma es el conjunto de genes expresados, junto con su nivel de transcripción, bajo un conjunto dado de condiciones. Se están poniendo a prueba varias estrategias:

Un enfoque que se está ensayando es el análisis en serie de la expresión génica (SAGE). Se trataría de determinar las condiciones fisiológicas y fases de desarrollo en las que genes y grupos de genes concretos se expresan, y de relacionar estos patrones de expresión con los de los genes cuyas funciones se conocen bien.

Otros enfoques distintos son el despliegue diferencial (differential display) y las tecnologías de hibridación en formación ordenada (hybridation-array). Esta ofrece buenas esperanzas de lograr un análisis a gran escala con buenos rendimientos. Recuérdese lo dicho sobre los microchips de oligonucleótidos.

Lo que es cierto es que el análisis clásico tipo Northern no sirve para esto. Se espera que incluso termine recurriéndose al uso de paneles solapados de oligonucleótidos en hibridación en formación para la correlación entre transcritos individuales y las ORF correspondientes.

También aquí será importante agrupar los genes en unidades funcionalmente relacionadas, que es de esperar contengan genes de función ya conocida.

El proteoma Se trata del conjunto de proteínas que se encuentran en una célula bajo unas condiciones determinadas. El proteoma de levadura se está estudiando mediante electroforesis bidimensional, usando espectrografía de masas para identificar las proteínas contenidas en las manchas del gel. Será importante caracterizar proteínas de complejos proteicos, que suministrarían un importante correlato bioquímico de los datos in vivo.

Análisis funcionales de todo el genoma, recurriendo a novedosas tecnologías genéticas y bioinformáticas, incluyendo los chips de ADN.

En general, los análisis genómicos globales funcionales suministran una clasificación funcional más que una comprensión detallada de cada gen. Para esto último habrá que volver a los estudios de corte más clásico, sobre genes o grupos de genes.

Como dice Fred Sherman, uno de los líderes del Proyecto genoma de Levadura, tener la secuencia del genoma no es muy diferente a tener uno de los grandes catálogos de productos bioquímicos comerciales que tanto usan los biotecnólogos. Cada laboratorio dispone de ese catálogo, pero cada uno usa un conjunto limitado de sus recursos, en función del tipo de investigación y del problema biológico que quiera abordar. Disponer

del atlas del genoma y de las herramientas de estudio de rasgos complejos impulsará la biología del siglo XXI de un modo que no podemos sospechar aún.

7. IMPACTOS DEL PROYECTO GENOMA EN LA

MEDICINA

El PGH influirá poderosamente en la biomedicina de los próximos lustros: permitirá avanzar en el conocimiento de la base de muchas enfermedades (Medicina Molecular), y abrirá perspectivas nuevas en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento, aunque esto último, necesitado de mucha investigación de tipo post-genómico, vendrá con más retraso.

Comprensión de la base molecular de las enfermedades. Uso de los modelos de ratones transgénicos:

Los ratones se pueden manipular en línea germinal e inactivar de modo dirigido genes.

De esta forma se han logrado modelos de numerosas enfermedades humanas, sobre todo las que afectan al sistema inmunológico y al desarrollo embrionario. Actualmente existen unas 1000 razas de ratones K.O. (noqueados), y obtener cada una de ellas cuesta una media de \$ 100.000 y unos 10 meses de desarrollo.

En 1997 el Instituto Merck de Investigación Genómica anunció que iba a financiar con \$ 8 millones a la empresa Lexicon Genetics para crear 150 nuevas razas de ratones K.O. usando una nueva tecnología desarrollada por esa compañía. La Merck pretende que las razas de ratón creadas en el

proyecto queden disponibles para los investigadores a un precio nominal. La estrategia de Lexicon consiste en insertar un pequeño trozo de ADN aleatoriamente en células madre embrionarias. El ADN insertado inactiva la función del gen donde se inserta, y junto con algunas secuencias

adyacentes transcribibles del ratón, suministra un sitio-etiqueta único. Luego se recupera esa etiqueta, de modo que se puede averiguar la identidad del gen inactivado.

Durante los próximos 3 años, Lexicon pondrá a trabajar robots de alto rendimiento para generar unos 500.000 clones mutantes de células madre embrionarias de ratón, cantidad suficiente para que cada gen quede marcado e inactivado una media de 5 veces. Las células clonadas se guardan en nitrógeno líquido. Para final de este año se espera disponer ya de 50.000 clones. Cualquier investigador con un gen clonado o secuenciado podrá consultar la base de datos OmniBank para localizar los clones que lleven una inserción inactivadora en el gen en que trabajan. Las células de

ese clon o clones se descongelan y se usan para crear el correspondiente ratón transgénico K.O., del que se estudiará el fenotipo a nivel anatomo-histológico, fisiológico, etc. con un ejemplo de cómo esta empresa está aplicando este método prometedor.

Diagnóstico molecular: detección de mutaciones

El avance en el PGH y en los mapas y secuencias ya disponibles impulsan la necesidad de disponer de técnicas capaces de rastrear ADN en busca de mutaciones asociadas con enfermedades humanas. En los próximos años se habrá identificado la mayor parte de los genes implicados en importantes enfermedades humanas. En las bases de datos se están introduciendo informaciones sobre mutaciones y sus implicaciones clínicas. Uno de los retos de la medicina será hacer uso de esa información para mejorar el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades.

Para detectar mutaciones en sitios previamente determinados se han diseñado una serie de métodos:

- *Hibridación de oligonucleótidos específicos de alelos

- *Amplificación específica de alelos (con o sin PCR, o con reacción en cadena de la ligasa, LCR)

- *Procedimientos que crean o destruyen sitios de restricción.

- *La detección de mutaciones en lugares sin especificar o cuando no se dispone de información de secuencia es una tarea muy ardua, aunque se han desarrollado algunas estrategias (rastreo de malos emparejamientos en el genoma).

- *Sin embargo, lo más frecuente es la situación en que se trata de identificar mutaciones en múltiples sitios potenciales dentro de segmentos de ADN de los que se conoce la secuencia normal.

- *Se han diseñado técnicas de tipo "multiplex" que permiten la búsqueda de diversos tipos de mutantes en un determinado gen.

De modo ideal, el procedimiento tendría que ser fiable, rápido, barato, y proporcionar información exacta sobre la posición y naturaleza de la mutación, así como requerir poco esfuerzo, ser automatizable y no usar reactivos peligrosos. Ninguno de los métodos actuales cumple este criterio. La secuenciación sería el método

definitivo, pero sigue requiriendo mucho trabajo, y los métodos automatizados de alto rendimiento son caros. De todos modos, debido a que hay mucho interés y dinero puesto en el empeño, se puede casi garantizar que veremos importantes avances en

breve.

Por ejemplo, se está desarrollando un sistema que no usa electroforesis en gel (una de las fases más tediosas), llamado espectrometría de masas por láser de desorción/ionización asistida por matriz.

La división Applied Biosystems de Perkin Elmer ha diseñado un análisis de hasta 32 mutaciones diferentes de un gen por amplificación simultánea de hasta 15 segmentos de ADN, seguida por ligado multiplex de oligonucleótidos específicos de alelos.

La misma empresa ha creado un ensayo de micro-PCR que puede realizar 24 ensayos de 2ml cada uno en un chip, y cuyos resultados se pueden leer en tiempo real por medio de la estrategia de TaqMan.

Otro de los avances más prometedores son los "chips" de oligonucleótidos: ordenaciones de diferentes oligos unidos a soportes semisólidos. ADN marcado fluorescentemente puede entonces hibridarse a los oligos del chip, de modo que el patrón de hibridación se puede analizar por scanning de fluorescencia.

Como se conoce la secuencia y posición de cada oligo en el chip, se puede determinar la posición y posiblemente la naturaleza de cada mutación.

Este enfoque de microchips con oligos ha sido llevado a un avance importante por la empresa Affimetrix: usando técnicas fotolitográficas similares a las que emplea la fabricación de chips de silicio, se han podido obtener chips con 64.000 diferentes sondas de oligonucleótidos unidos a superficies planas de cristal. En 15 minutos el dispositivo puede detectar la hibridación de secuencias diana marcadas fluorescentemente a oligos del chip.

Otro caso notable de nuevas perspectivas que se pueden abrir con el diagnóstico molecular es el Proyecto de Anatomía Genómica del Cáncer que pretende realizar un catálogo de todos los genes expresados en los distintos tipos de células tumorales. Se trata del último ejemplo de matrimonio entre ciencia genómica e informática, con consecuencias trascendentales en el ámbito clínico. Los investigadores quieren determinar cómo cambia la expresión génica conforme progresa el cáncer y comprender cómo surgen los tumores. Se espera que se pueda obtener un índice genético de los tumores, de modo que el clínico no sólo dependa de anatomía patológica convencional (microscopía), sino que el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de sus pacientes se pueda asentar en un conocimiento más adecuado a base de la expresión génica y de las proteínas. La idea de que se puedan identificar todos los genes alterados en un cáncer determinado es muy atractiva. Debería realmente suministrar información para clasificar tumores e identificar dianas para la terapia.

8. ¿QUIÉN HACE INVESTIGACIÓN GENÓMICA?

Entidades y Centros públicos o semipúblicos que participan activamente en

Investigación genómica Proyectos Nacionales EEUU:

*Institutos Nacionales de la Salud (NIH), de los que dependen varios centros, entre ellos el Centro Nacional de Recursos del Genoma Humano (NCHGR), el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI)–

*Ministerio de Energía (DOE), a través, de los Laboratorios Nacionales de Lawrence Livermore, Lawrence Berkeley y Los Alamos.

*Centro Mixto para la Investigación Genómica, formado por el MIT (Instituto Tecnológico de Massachussetts) e Instituto Whitehead.

*Instituto Tecnológico de California (CalTech).

*Universidad de Stanford.

*Universidad Washington en Saint Louis, con financiación de NIH y de la empresa Merck.

Otras universidades:

Francia:

Francia fue pionera en la elaboración de los primeros mapas genéticos de buena resolución, y ello se debió al esfuerzo de una entidad privada, el Centro de Estudios del Polimorfismo Humano (CEPH) financiada en buena parte por una asociación de apoyo a enfermedades genéticas (la AFM, Asociación Francesa contra las Miopatías). De ahí, y del entusiasmo de Jean Dausset, J. Weissenbach, Daniel Cohen y otros, surgió el Généthon, un laboratorio altamente automatizado que demostró que era viable un

enfoque centralizado para elaborar cartografías genéticas y físicas. El CEPH (una vez cumplido su papel pionero en investigación básica) se va a dedicar a aprovechar los mapas para identificar genes de susceptibilidad a enfermedades.

Últimamente el Estado está financiando estudios genómicos, y Francia está buscando la manera de hacer frente a la fuerte competencia de la alianza EEUU-Reino Unido (dudas sobre si colaborar o hacer un proyecto propio).

Reino Unido:

El papel más destacado corresponde al Centro Sanger, cerca de Cambridge, fundado conjuntamente por el Wellcome Trust y el Consejo Británico de Investigación Médica (BMRC). Para el año 2002 esperan obtener una sexta parte de la secuencia genómica humana (500 Mb) con un coste de 50 millones de libras. Se ha centrado en los mapas detallados y secuencias de los cromosomas 1, 6, 20, 22 y X. Es el centro de referencia para el estudio del genoma del nematodo *C. elegans*, que se espera concluir en 1998.

En ese mismo campus tecnológico se asientan otros importantes centro genómico británico, el Centro de Recursos del Proyecto Cartográfico del Genoma Humano (HGMP-RC).

Recientemente, se ha decidido potenciar el papel del Centro Sanger: el Wellcome Trust va a dedicar 110 millones de libras adicionales, lo que supone una inversión de 205 millones de libras. Ello permitirá al Sanger comprometerse a secuenciar hasta un tercio del genoma humano, y no sólo la sexta parte, como se proyectó inicialmente.

Alemania:

Alemania ha tardado en apuntarse a la oleada genómica (en buena parte debido a las peculiares reticencias sociales derivadas de los traumas del nazismo). Pero en 1995 el Gobierno por fin decidió una financiación continuada de \$ 72 millones al año durante 8 años, con prioridad hacia el estudio de enfermedades genéticas y diseño de terapias. Uno de los centros implicados es el Instituto Max Plank de Genética Molecular (Berlín).

Japón

Japón tardó en incorporarse plenamente a la investigación genómica. Un centro privado (Instituto Kasuza, cerca de Tokyo) logró una de las primeras secuencias bacterianas, y planea estudiar genomas de plantas. Dos ministerios (el de Industria y el de Salud) han montado dos empresas (Helix y Pharma-Genocyte) que colaborarán con la industria privada para aprovechar la información genética y transformarla en aplicaciones comerciales.

Iniciativas internacionales

HUGO (Organización del Genoma Humano): asociación internacional de científicos implicados en el PGH, creada en 1989 para promover la cooperación. Esencialmente su papel es coordinar los esfuerzos nacionales (evitando la dispersión y duplicación inútil de esfuerzos), difundir datos, promover seminarios y congresos, difundir los temas ELSI, y suministrar consejo e información sobre el genoma humano. La idea original partió de

Sidney Brenner, quien sugirió su curioso acrónimo, en el primer congreso de cartografía y secuenciación de genoma humano, en abril de 1988, en el Cold Spring Harbor Laboratory. Su primer presidente fue Victor McKusick, el creador del monumental Mendelian Inheritance in Man. Su sede central está en Ginebra, pero hay tres sedes regionales (América, Europa y Pacífico). Las funciones de coordinación de HUGO no sólo se refieren al campo de la colaboración internacional, sino que también

coordina los trabajos de genomas según especies y siguiendo un enfoque interdisciplinar.

Organización Europea de Biología Molecular (EMBO): Posee uno de los mejores laboratorios mundiales de Biología Molecular (EMBL, en Heidelberg), y está cumpliendo una importante función en la coordinación científica europea. En Cambridge (y muy cerca del centro Sanger) mantiene el Instituto Europeo de Bioinformática (EBI).

Investigación genómica privada e intereses comerciales

Durante mucho tiempo las empresas no parecieron mostrar interés por la genómica, hasta que en 1991 Craig Venter (entonces perteneciente a los NIH) presentó un método para aislar secuencias génicas, y empezó a pedir las polémicas patentes sobre fragmentos de ADNc. En tres o cuatro años el panorama ha cambiado radicalmente. La genómica industrial ha obligado a muchas empresas biotecnológicas de primera generación a transformarse o morir, y ha animado a las multinacionales a apostar fuerte. Muchos científicos han pasado de la Universidad a la Industria, o al menos tienen fuertes relaciones con las empresas. La inversión privada ha sido tan

fuerte, que la investigación académica no puede competir en este campo aplicado. Un profesional del prestigio de Daniel Cohen dice que la Universidad y demás instituciones académicas no deben perder el tiempo intentando buscar genes de enfermedades comunes, a no ser que tengan vínculos con la industria, so pena de quedar obsoletos muy pronto. Los académicos deben, en cambio, ir a la caza de enfermedades raras o del tercer mundo que no interesen a las empresas. Es decir, no a la competencia con la industria, pero sí a la especialización en busca de un adecuado "nicho ecológico".

En los últimos años, la apuesta de ciertas empresas por la secuenciación ha sido tan fuerte que incluso se habla de amenaza a los proyectos financiados con fondos públicos. Causó sensación el anuncio (mayo de 1998) de que la empresa TIGR (no olvidemos, la líder en secuenciación de genomas modelo) se ha unido en un proyecto con la Perkin-Elmer (fabricante de secuenciadores) para obtener "por su cuenta" la secuencia del genoma humano varios años antes que los proyectos públicos y a la décima parte de su coste. Aunque algunos temieron que el Congreso norteamericano

(siempre tan celoso de no emplear dinero de los contribuyentes en proyectos ya cubiertos por la iniciativa privada) rápidamente intentaría "reencauzar" (o incluso suprimir) el PGH oficial, los temores parecen haberse disipado por el momento, ya que, descontando la "fanfarronería publicitaria" que suele acompañar a ciertas empresas, todos están de acuerdo en que la estrategia de los centros públicos, aunque más lenta, suministra datos de alta calidad que se hacen públicos enseguida, para su aprovechamiento por la comunidad, y por lo tanto, su "valor social" es muy

superior al de las empresas.

Empresas genómicas de nuevo cuño

Las empresas genómica se pueden clasificar en tres tipos: las que se dedican sobre todo a cartografía y secuenciación, las que hacen clonación posicional, y las que hacen genómica funcional, aprovechando los datos genómicos (a menudo comprados a las primeras) para buscar nuevos medicamentos.

Empresas genómicas de secuenciación y gestión de datos:

The Institute of Genome Research (TIGR): está casi monopolizando la secuenciación de genomas microbianos. A "velocidad de crucero" secuenciarán unos 10 genomas por año. Hasta hace poco funcionaba por acuerdos con HGS, pero la alianza se ha roto por desavenencias sobre el control de datos.

Human Genome Sciences (HGS). Entre sus directivos se encuentra W. Haseltine (antiguo investigador sobre el sida en la Universidad de Harvard). En 1996 anunciaron que habían secuenciado el genoma de *Staphylococcus aureus* (aunque no hicieron pública la secuencia). Colabora con empresas para obtener vacunas y medicamentos contra las bacterias que están secuenciando. Ha llegado a acuerdos con el gigante agrícola Pioneer HiBred para estudiar el genoma del maíz. Acuerdo por valor de 100

millones de dólares con el gigante farmacéutico SmithKline Beecham para

suministrarle información sobre genes expresados en tejidos y órganos humanos.

Incyte vende acceso no exclusivo a bases de datos relacionales de ESTs (LifeSeq). Está intentando desarrollar la secuenciación rápida por espectrometría de masas.

Genome Therapeutics, ha lanzado una base de datos microbiana (PathoGenome), la mayor fuente de información de más de una docena de patógenos. Ha llegado a un acuerdo con Bayer. También ha llegado a acuerdos con Astra (Suecia) para terapias y vacunas contra *Helicobacter pylori*, y con Schering-Plough, para lo mismo respecto de *Staphylococcus aureus*.

Microcide, con un enfoque similar al anterior.

Empresas dedicadas preferentemente a la clonación posicional:

Buscan genes de interés haciendo clonación posicional (para lo que deben estudiar marcadores en familias con miembros afectados de alguna enfermedad). Sus campos de aplicación pueden ser de dos tipos: desarrollar sondas genéticas y otras herramientas diagnósticas, y recorrer el a veces largo camino que va de los genes a desarrollar nuevos medicamentos.

Sequana Therapeutics dispone de 30.000 muestras de ADN de pacientes, familias y poblaciones, que le sirven para buscar genes de varias enfermedades. Ha adquirido recientemente la firma NemaPharm, dedicada a desarrollar nuevos medicamentos a partir de la información genómica del nematodo *C. elegans*. Su especialidad es usar organismos modelo para ensayar nuevas terapias. Alianza con Boehringer para desarrollar

terapias contra el asma (basándose en los datos de una población de la isla de Tristan da Cunha). Acuerdo con ZymoGenetics para encontrar moléculas de señales endocrinas y paracrinas.

Millennium Pharmaceuticals. Desarrolla diagnósticos y medicamentos. Investiga en diabetes, aterosclerosis, asma y obesidad. Como muchas empresas de este tipo, anda metida en disputas sobre patentes.

Myriad Genetics (fundada por el nobel Walter Gilbert y Marc Skolnic). Se ha hecho famosa (y polémica) por comercializar un test genético de susceptibilidad al cáncer hereditario de mama y ovario dependiente de los genes BRCA1 y BRCA2.

Darwin Molecular (cofundada por Leroy Hood, el inventor de los secuenciadores de alto rendimiento). Como está en Seattle, el paisano Bill Gates (Microsoft) le dio un buen empujón financiero. Usa no sólo genómica, sino química combinatoria para desarrollar nuevos remedios.

Genset (Francia): cuenta como director de investigación a Daniel Cohen (uno de los pioneros del Genethon que logró los primeros mapas del genoma). Su énfasis está en desarrollar nuevos medicamentos de pequeño tamaño para enfermedades variadas, incluido el cáncer. Se ha convertido en un gigante capaz de competir con las empresas americanas.

Empresas de genómica funcional

Combion, Synteni y Affimetrix están desarrollando tecnologías de hibridación con chips de ADN, que pueden analizar la expresión de cientos de genes al mismo tiempo.

Affimetrix posee la prometedora tecnología GenChip.

NemaPharm, dedicada a usar el nemátodo *C. elegans* para rastrear moléculas potencialmente terapéuticas en humanos. Actualmente es una filial de Sequana.

Hexagen (Reino Unido) usa ratones como herramientas para rastrear posibles medicamentos

Papel de las multinacionales

Las multinacionales han empleado mil millones de dólares en acuerdos con las empresas genómicas, un presupuesto que ya supera al estatal del PGH americano. Piensan que la ciencia genómica puede acelerar el proceso de descubrimiento, desarrollo y comercialización de nuevos medicamentos.

Merck: Su programa genómico está dirigido por Thomas Caskey (otro de los pioneros procedentes de la Universidad). La empresa dispone del Instituto Merck de Investigación Genómica. Ha llegado a acuerdos con Lexicon para análisis a gran escala de función génica. Suministra apoyo financiero a la Universidad Washington en St. Louis para una colección de clones de ADNc. Dispone de más de 250.000 secuencias de ESTs, que representan la mayoría de los genes humanos. Los datos se integran en el Consorcio IMAGE. Su política es distribuir la información de modo inmediato a las bases públicas de datos.

Pharmacia & Upjohn: posee un acuerdo con Incyte, que le permite acceder a sus mapas y bases de datos.

SmithKline Beecham basa actualmente el 25% de su I+D en programas genómicos, y en el año 2000 toda su investigación dependerá del genoma.

9. PROTECCIÓN DE LA INTIMIDAD GENÉTICA

La difusión de datos genéticos personales a terceras personas o a entidades

(empresas, compañías de seguros, etc.) podría suponer un grave atentado a la intimidad y poner en peligro expectativas de la persona afectada, condicionando delicadas decisiones en diversos ámbitos (familiar, educativo, de salud, laboral, de seguros, etc.).

Hoeffel, citado por Nielsen (1996) ha ilustrado vívidamente el riesgo de la pérdida de la intimidad genética de la siguiente manera: "Imagínense una sociedad en la que las autoridades tuvieran archivadas muestras de tejidos y fluidos de toda la comunidad, y un banco de datos del perfil de ADN de cada persona. Imagínense entonces que, no sólo los agentes del orden, sino también las compañías de seguros, empleadores, escuelas, agencias de adopción y muchas otras organizaciones, pudieran tener acceso a esos archivos de acuerdo con su "necesidad de conocer datos" o acreditando que dicho acceso se realiza "en interés público". Imagínense a continuación que se pudiera negar a una persona empleos, seguros, adopción, atención sanitaria y otros servicios y prestaciones sociales basándose en la información contenida en su perfil de ADN, como una enfermedad genética, la herencia genética o la idea subjetiva de alguien de lo que es un "defecto" genético".

Habría que distinguir, sin embargo, entre la difusión de información en el ámbito familiar y la difusión de esa misma información a entidades corporativas. En el primer caso nos podemos encontrar con situaciones en las que podría prevalecer el derecho de familiares a conocer datos genéticos de un individuo afectado por alguna enfermedad genética, con objeto de evitar peligros y adoptar medidas responsables. De cualquier manera, este ámbito familiar es menos susceptible de ser regulado por leyes.

La mayor parte de los especialistas reconocen que habrá que legislar específicamente para evitar el uso de datos genéticos sensibles por parte de empresas y agencias gubernamentales, sobre todo a la vista del peligro

de difusión por métodos electrónicos. La adquisición de datos genéticos fuera del contexto familiar puede llevar a la estigmatización y discriminación de los individuos por motivos biológicos. Una cuestión clave aquí se centra en el equilibrio entre el derecho individual a la intimidad genética y el derecho de la sociedad a evitar daños a terceros: ¿Cómo distinguir la información genética que debería ser confidencial a toda costa de aquella que debería ser divulgada para evitar amenazas a la salud o a la integridad de terceras personas o de la población en general?

Pero también se plantea un derecho previo: el de no conocer. No se puede obligar a un individuo a conocer datos sobre predisposiciones a enfermedades futuras que no tengan curación, porque crearíamos una situación de impotencia que podría influir negativamente en su modo de vida.

Según la OTA, el análisis genético (sondeo, test o prueba genética) se define como el uso de ensayos específicos para determinar el estado genético de individuos de los que se sospecha que tienen gran riesgo de una determinada condición genética. En cambio, cribado genético (screening) alude al mismo tipo de pruebas, pero referidas a una población o colectivo que se supone tiene alto riesgo de padecer y/o transmitir una afección genética.

10. SONDEOS GÉNICOS EN ÁMBITOS LABORALES Y DE CONTRATACIÓN DE SEGUROS

En muchos trabajos es habitual, antes de ser contratado, pasar un reconocimiento médico, y que los trabajadores se sometan a chequeos médicos periódicos. ¿Cómo se insertará en este sistema la información sobre predisposiciones a enfermedades, aunque éstas no se manifiesten en el momento de la inspección médica? Porque no es lo mismo usar esos datos para proteger al trabajador de ciertos entornos potencialmente peligrosos, (suministrándole atención médica y pasándolo a otra

sección sin que pierda sus derechos y remuneraciones) que usar esa información para evitar costes sociales a los empresarios a costa de discriminar al trabajador afectado. Las consecuencias de ello serían:

*La estigmatización del trabajador, al que le resultaría difícil encontrar empleo aun cuando no sufra todavía la

enfermedad. Hay que elaborar leyes que imposibiliten esta situación, protegiendo los derechos laborales ante la

información genética.

*Que se vaya imponiendo un modelo de causalidad genética, de modo que se descuide la importancia de mejorar las condiciones sanitarias de los lugares de trabajo y mantener la atención a la salud de los trabajadores. Hay que realizar una crítica de los modelos de causalidad genética, protegiendo a los individuos de la tendencia a sobrevalorar la cientificidad de los datos genéticos y su "determinación" de rasgos potenciales o futuros, cuya expresión en forma de probabilidades introduce otro elemento de ambigüedad e incertidumbre.

Las compañías de seguros tenderían a manejar los datos genéticos en su provecho, negando cobertura a determinados individuos (como ya ha ocurrido en los EEUU) o imponiendo primas altas. Las aseguradoras (y los empresarios que pagan buena parte de la atención sanitaria de los empleados) tienen pocos incentivos para correr el riesgo de aceptar a individuos con "malos genes" (el mercado es amplio, y "no

pasa nada" por perder clientes/potenciales trabajadores), y tienden a interpretar de una manera desmedida y sesgada ese riesgo. Se han llegado a dar casos en que se ha denegado seguro por el simple hecho de ser (o tener un familiar) heterocigoto (portador sano), y esa información, reproducida en bases de datos, ha servido para discriminar en la cobertura de seguros y empleo del individuo y su familia.

En EEUU existe una Ley de 1990 ("Americanos con discapacidades", ADA) que no ha previsto su aplicación al ámbito de los seguros, dando, de hecho, libertad a las compañías privadas para discriminar sobre la base de datos genéticos. Por ejemplo, las compañías de seguros pueden rehusar la póliza a un portador sano basándose en el 25% de probabilidad de que tenga un hijo afectado, y tampoco cubren enfermedades que desarrollan tardíamente (como la corea de Huntington).

Por otro lado, si una empresa quiere obtener datos genéticos de un individuo que no quiere acceder a esa información, ¿cómo se garantizaría el derecho a no conocer su futuro? Este es uno de los ámbitos más delicados en la actualidad.

Pero se puede dar la situación de que un individuo, a sabiendas de su

predisposición genética, la oculte al asegurador, beneficiándose de una prima ventajosa (lo que se llama "selección adversa"). En este caso, según el sistema de seguros vigente, estaría defraudando a la empresa e induciendo a imponer primas más elevadas a otros individuos. ¿Cómo conciliar los intereses de la empresa y los del cliente?

Diversos países están imponiendo moratorias al uso de datos genéticos por parte de las Aseguradoras, pero en otros, los lobbies están presionando para acceder a las pruebas de ADN de los asegurados potenciales. Por otro lado no podemos dejar de aludir al muy comentado hecho de que en la redacción final (1996) del Convenio sobre Derechos Humanos y Biomedicina del Consejo de Europa se eliminaron las referencias a la comunicación de datos genéticos fuera del ámbito clínico (reflejo de que el debate no está cerrado, y de que aún seguirá la pugna de intereses).

Un equipo de la Universidad Georgetown realizó un estudio, publicado en Science (Lapham et al, 1996), a partir de encuestas a más de 300 individuos con familiares afectados por enfermedades genéticas, cuyos resultados se pueden resumir así:

25% pensaban que se les estaba negando seguros de vida

22% que se les estaba negando cobertura de seguro de salud

13% pensaban que se les estaba negando tener un trabajo

19% rechazaban someterse a una prueba genética de la enfermedad del pariente afectado

18% no revelan la información genética a la familia

17% no revelan esa información a los empleadores.

Hay muchos autores que se oponen a un sistema de seguros que use las técnicas de sondeo genético. Para Javier Gafo (1995), podríamos deslizarnos hacia una sociedad hipocondríaca en la que una especie de espada de Damocles se cierne sobre la existencia de muchas personas. La enorme cantidad de información que saldrá del PGH no tiene por qué usarse indiscriminadamente. Hay una diferencia cualitativa muy importante entre los actuales reconocimientos médicos para seguros y trabajo, y los estudios que aprovecharan los datos genéticos, porque en éstos se entra en la intimidad biológica del individuo, condicionándole en aspectos esenciales de su vida y de su familia.

11.POSIBLES IMPACTOS SOCIALES DE LA MEDICINA GENÓMICA

Práctica de la Genética médica: Consejo genético

La práctica de la genética clínica se manifiesta en forma de consejo genético. El consejo genético se puede definir (Bowles Biesecker, 1995) como la interacción entre un proveedor de atención sanitaria y el paciente o miembro familiar sobre preocupaciones relativas al nacimiento de un niño con problemas médicos, sobre opciones reproductivas, una historia familiar de mala salud, o el diagnóstico de una condición genética. En él, el especialista realiza una serie de funciones:

*Examina la condición genética del individuo (y en su caso parientes) que acuden a la consulta: historia clínica previa, pruebas genéticas diagnósticas, etc., ayudado en su caso de consultas a otros especialistas.

*Suministra información sobre posibles riesgos genéticos.

*Comunica el pronóstico y posible evolución de la situación del consultante.

*Describe las opciones y alternativas que los consultantes tienen a su alcance.

*Responde a las preguntas y queda disponible para ulteriores consultas.

Actualmente, en la mayor parte de los países, no hay programas de especialización en genética médica, situación que debería cambiar rápidamente ante la avalancha de datos genéticos que va a generar el PGH. Hoy día los médicos están mal preparados para asimilar los datos genéticos y suministrar asesoramiento. Es necesario que en los currícula de Medicina se implanten asignaturas de genética, y que se creen masters especializados para que el clínico pueda interpretar adecuadamente la información genética.

En la atención sanitaria jerarquizada, en las consultas de especialistas, se deberán crear equipos interdisciplinarios coordinados, en los que habrán de participar analistas genéticos, médicos, ATS, psicólogos, asistentes sociales, etc. Habrá que crear un entorno que permita a los pacientes tomar decisiones autónomas pero informadas, contando con apoyo emocional. Habrá que seguir aprendiendo a conjugar los dos principios deontológicos de beneficencia y autonomía en un contexto de alta densidad de información genética.

Debido a la abundancia de pruebas genéticas conforme avance el PGH, y a la previsible carencia de consejeros y genéticos clínicos especializados, algunos de los servicios habrán de integrarse en el nivel de atención primaria, lo que señala la necesidad de formar adecuadamente a los médicos generalistas y de familia, enfermeros, etc. Ellos habrán de jugar un papel esencial a la hora de educar a la población, por lo que habrán de estar al tanto de los avances en el campo, y estar preparados para las ramificaciones psicológicas y sociales.

Aunque en los anteriores apartados ya se han ido citando algunos de los temas éticos emanados de la aplicación de las técnicas de análisis genético en ámbitos clínicos, pasaremos a citar y comentar brevemente el tipo de cuestiones a las que se debe enfrentar un consejero genético (Wertz, 1995):

En este sentido, ya ha habido en EEUU varios anti-ejemplos, sobre todo relacionados con pruebas genéticas disponibles comercialmente (genes BRCA, Corea de Huntington), que no garantizan ese entorno al que aludía. La intromisión de intereses comerciales es extremadamente distorsionadora y preocupante. La empresa Genetics and IVF (que suministra una de las pruebas de los genes de cáncer de mama) ofrece por sistema sus servicios de detección prenatal de fibrosis quística y X frágil, aunque la consulta haya sido por otros motivos. Pero la empresa se ampara en que están simplemente ampliando sus ofertas comerciales de servicio a los clientes, para que estos puedan tomar opciones con la mayor información posible.

Confidencialidad: Tendría que regularse el acceso de terceros

institucionales o ajenos a la familia a los datos genéticos, sobre todo con

objeto de evitar discriminaciones. Se ha de abordar la cuestión de cómo

gestionar y proteger los datos registrados en bancos informáticos, que tan

susceptibles son a su revelación (p. ej., los datos genéticos deberían

guardarse de modo separado, sin conexión con otros registros

electrónicos personales). En el ámbito de las relaciones familiares del

paciente, el tema no es fácil (ni seguramente deseable) de regular. Se

pueden presentar conflictos con familiares, si el cliente se niega a revelar

información que puede ser esencial para que aquellos tomen sus

correspondientes opciones. En estos casos, si el paciente se niega ¿podría

el médico, para evitar daños a terceros, revelar los datos pertinentes? Para

muchos, existe un evidente deber de informar a terceros cuando el no

revelar esos datos puede acarrearles daños severos y claros. Revelación de datos sensibles al cliente y/o a sus familiares: en ciertos casos se plantea el dilema de si dar o no una información al cliente que puede ser psicológicamente delicada, o que puede perturbar sus relaciones familiares (revelación de identidad sexual genética, no- paternidad del padre legal, etc.). Estos temas merecen un tratamiento caso a caso y con extraordinaria delicadeza. Además, el clásico principio deontológico de *primum non nocere* (no-maleficencia) justifica no revelar información que puede llegar a ser devastadora para el individuo. En el contexto de la información genética, cuyo mero conocimiento no siempre se va a traducir en mejora del

individuo, se está reclamando insistentemente el derecho a no conocer.

Asignación de recursos, temas de justicia e intereses comerciales en la implantación de las pruebas genéticas

Un tema importante, sobre todo a la vista de los problemas presupuestarios de la Sanidad pública, será el de la asignación de recursos y el de la igualdad de acceso a los servicios genéticos médicos. Si dicha igualdad no se garantiza, podría darse el caso de que los discapacitados de origen genético fueran "estigmatizados" como una infraclass. Se debe garantizar un sistema nacional de sanidad y un nivel de educación adecuada en los servicios genéticos.

El mercado de pruebas diagnósticas moleculares está en plena expansión, como se puede comprobar por las siguientes cifras: para 1998 se calcula que las pruebas de ADN para enfermedades infecciosas supondrán un valor de mercado de unos \$ 300 millones; las de enfermedades genéticas, unos \$ 65 millones, y las de cáncer, unos \$ 340 millones. El mercado global de pruebas de ADN (incluyendo las forenses y otras) será de 1000 millones de dólares el próximo año. Grandes multinacionales (en muchos casos tras absorber o entrar en tratos con pequeñas empresas biotecnológicas) han irrumpido en este negocio, y pugnan por introducir sus productos en los mercados, cuyo consumidor decisivo (aunque no pague la factura) es el colectivo médico, al tiempo que van impregnando a la opinión pública con sus sofisticadas campañas publicitarias, donde se explota la glamour de ofertar las tecnologías biomédicas del siglo XXI. Mientras tanto, los medios de comunicación difunden casi cada día el aislamiento de un nuevo gen para una enfermedad, seguido de promesas sobre diagnósticos y terapias más o menos lejanas. Ya tenemos el escenario y los actores principales que presionarán para que se difunda, sin discusión social previa, otra nueva tecnología que aún no sabemos cómo vamos a usar de modo responsable al servicio de los intereses generales.

Será esencial controlar la implantación de pruebas genéticas: fiabilidad (rigor con los falsos positivos y falsos negativos); controles de calidad y normalización (¿quién los hace: laboratorios comerciales o independientes, estatales o no?), etc. Pero por encima de todo, se debe impedir que determinados grupos de presión o interés se conviertan en las únicas fuerzas que de hecho configuran la introducción de las pruebas. Los mecanismos democráticos y participativos de la sociedad deberían

permitir identificar qué factores actuales están pugnando en este tema, para

determinar cuáles deben favorecerse y cuáles frenarse, en función de los objetivos sociales estimados valiosos. Llegado el caso, el Estado debería intervenir, para que el proceso de diseminación de esta tecnología no quede exclusivamente en manos de las fuerzas de mercado y de grupos de presión.

Un caso reciente al respecto es el de la comercialización de la prueba para la detección presintomática de cierto tipo de cáncer hereditario de mama y ovario. La empresa privada Genetics & IVF Institute (VA), está ofreciendo la prueba para la detección de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 por \$ 295. Las compañías americanas que están comercializando los primeros tests genéticos (BRCA-1 y BRCA-2) están sembrando una alarma innecesaria y prometiendo cosas imposibles, según genéticos y bioéticos reunidos en un foro sobre pruebas genéticas en noviembre de 1996, organizado en San Francisco por el Programa sobre Genoma, Ética y Sociedad de la Universidad de Stanford.

Francis Collins (director del NCHGR): "No necesitamos una talidomida

genética". Criticó el anuncio difundido por el Genetics and IVF Institute (Virginia) que apelaba a que las mujeres judías ashkenazíes, independientemente de su historia familiar, se sometieran a la prueba de la delección 185delAG. Esta mutación del gen BRCA-1 se encuentra en el 1% de las mujeres de ascendencia judía europea oriental. Para los expertos, Myriad Genetics (Salt Lake City) y Genetics & IVF han sobreestimado el riesgo de cáncer hereditario entre las mujeres con mutaciones en esos dos genes, al usar

datos procedentes de los casos de familias más afectadas. Los participantes de este foro mostraron su alarma por las declaraciones de Mark Skolnick (vicepresidente de Myriad) sobre su decisión de ofrecer las pruebas al precio de unos \$ 2.400. A diferencia de los genéticos, que advierten que no hay tratamiento preventivo para la enfermedad, Skolnick mantiene la posibilidad del recurso preventivo a la mastectomía. Los expertos de Stanford advierten que las mujeres, a no ser que tengan una historia familiar previa con individuos afectados, no deben hacerse la prueba, y piden que la FDA regule las pruebas genéticas y su comercialización, de modo que las normas incluyan no sólo los requisitos de eficacia y seguridad en su sentido médico, sino también en el social y psicológico.

Incluso cuando se identifica una mutación, el trasladar ese dato a información sobre susceptibilidad de un individuo puede ser una tarea peliaguda. Aún más si contamos con el hecho de que la mayor parte de estas enfermedades carece de tratamiento efectivo. El caso de las pruebas BRCA, de Myriad es revelador de esto. Las pruebas podrían ser interesantes en la comunidad judía, pero cómo juzgar el equilibrio en otras

personas entre la incertidumbre creada por el resultado del test frente a la causada por la falta de esa información.

Myriad ha cometido varios errores: afirmaciones mesiánicas sobre el "mundo nuevo" que nos abren las pruebas genéticas en la nueva medicina, en el que la prevención sustituirá al tratamiento de la enfermedad. Ello constituye una perspectiva incierta y en todo caso, lejana que obvia el riesgo de levantar falsas esperanzas. Y siempre está el peligro de que la promesa de beneficios para los accionistas de la empresa sea una fuerza motriz demasiado importante en la implicación de las compañías privadas en el campo de la salud.

En toda esta cuestión se mezclan, además, otros temas. Por ejemplo, grupos feministas critican la postura de los que defienden prohibir o limitar estas pruebas, con el argumento de que se está ejerciendo paternalismo con las mujeres.

La mayor parte de organizaciones profesionales de obstetricia y de genética se han opuesto a la introducción de pruebas genéticas fuera del marco controlado de la investigación académica clínica, y antes de que se resuelvan las cuestiones sobre fiabilidad, control de calidad, etc. Personalidades del Programa ELSI han advertido que las pruebas de los genes BRCA comercializadas no cumplen los requisitos emanados de los grupos consultivos del Proyecto Genoma sobre buena práctica con los tests genéticos.

Posibles desequilibrios en el sistema sanitario

Jones (1996) ha llamado la atención de varios problemas potenciales que se pueden plantear en el sistema sanitario si se confirman y acentúan algunas tendencias latentes en el desarrollo de la medicina genómica predictiva.

Uno deriva de la ya citada paradoja del "no-paciente" o "enfermo saludable": muchos individuos podrían entrar en esa categoría de diagnosticados "por adelantado". ¿Cómo organizarán sus vidas a la vista del diagnóstico/pronóstico?

Muchos de ellos, independientemente de los problemas psicológicos (hipocondría incluida), tendrán que hacerse periódicas revisiones, pruebas, etc, y podrían cogerse a bajas laborales ante síntomas que no tienen por qué tener relación con la predicha y temida enfermedad. Dados los precedentes (al menos en nuestro país) sobre concesión de bajas laborales, ¿qué efecto tendría ello sobre los costes del sistema de bienestar social?

Alteraciones en el equilibrio entre atención primaria y secundaria

(especialistas). Actualmente los médicos generalistas y los centros de atención primaria cumplen un papel

esencial de filtro, de modo que la mayor parte de los pacientes es atendida a ese nivel, basándose en diagnósticos y tratamientos que minimizan el posible peligro (ya que la mayor parte de afecciones se resuelven por sí mismas o con mínimo tratamiento). Las presiones (demanda popular y oferta comercial) para introducir los diagnósticos genéticos presintomáticos y otras herramientas de tecnología genética podría llevar a aplicar estas pruebas a muchos pacientes típicos (de los que evolucionarían por sí solos); es decir, muchos de ellos serían derivados desde el nivel de atención primaria a los especialistas.

Existe la preocupación de que el clima de entusiasmo hacia el PGH, junto con las presiones de las empresas biotecnológicas y farmacéuticas empujen al sistema sanitario a una implantación desmedida de las pruebas genéticas "más allá de lo fiscalmente prudente, de lo médicamente necesario e incluso de lo éticamente aceptable".

La salud y enfermedad en la era de la Medicina Genómica

La manera que tenemos los humanos de enfrentarnos a la enfermedad, a la vejez y a la muerte, está sometida a una serie de influencias sociales y culturales, cambiantes a lo largo del tiempo. A pesar de que las mejoras en salud y esperanza de vida han dependido en buena parte de las mejoras en medidas preventivas y sociales (más higiene, cambios en la dieta, urbanización con redes independientes de aguas potables y residuales, etc.), tendemos a darle más importancia a la idea de que cada enfermedad tiene una causa determinada y que puede ser remediada a partir de

medicamentos específicos, según el paradigma de las "balas mágicas" representado por el éxito del tratamiento antibiótico de muchas enfermedades bacterianas. Las promesas de la Medicina genómica van a acentuar esa visión de las enfermedades, incluidas las crónicas, como susceptibles de tratamientos basados en medicamentos y terapias dirigidas a dianas moleculares específicas (la terapia genética sería el último y definitivo paso en esa dirección, al ser los genes los eslabones finales de

esa especificidad, y los primeros en la cadena de causación).

Tendencias en la definición y tratamiento de la enfermedad en el

enfoque molecular

La medicina molecular podría inducir una redefinición de la enfermedad, que tendería a postergar el clásico paradigma de signos y síntomas que se ha venido usando al menos desde Hipócrates. Para algunos analistas, actualmente estamos en una etapa intermedia, en la que las compañías luchan por el mercado a base de seguir poniendo el énfasis en tratar los síntomas, mientras que la investigación que ellas misma desarrollan se mueve en otra dirección. Para muchos, la revolución molecular ha avanzado lo suficiente como para cambiar el modo en que pensamos

acerca del diseño de fármacos, pero aún no tanto como para crear un nuevo marco en el que considerar a los pacientes, enfermedades, mercados y desarrollo de productos (Crooke, 1996). El negocio sigue organizado alrededor de un concepto "arcaico" de enfermedad (categorías de enfermedades según sus signos y síntomas), mientras que la investigación está centrada en dianas moleculares (que a menudo pertenecen a familias multigénicas) y organizada alrededor de mecanismos subyacentes a los procesos.

Para descubrir nuevos medicamentos será cada vez más esencial encontrar su diana molecular, requerida para iniciar y/o mantener un determinado fenotipo de enfermedad. Habrá que diseñar drogas con la suficiente especificidad para aprovechar la revolución molecular. Para resolver el problema de la especificidad se están dando dos estrategias:

*Mejorar los enfoques tradicionales de diseñar drogas que interaccionan con un receptor proteico. Aprovecha

la cristalografía de rayos X, espectroscopía, diseño asistido por ordenador, etc.

Su objetivo es crear una molécula pequeña optimizada con la mayor fidelidad de interacción respecto de la diana.

*El enfoque combinatorio. La biotecnología actual posee varias herramientas que permiten obtener ingentes variedades de nuevos compuestos. A partir de esta variedad, el trabajo se centra en descubrir la molécula más eficaz y selectiva. Con nuevos procesos de screening, se pretende buscar nuevas moléculas sintéticas a partir de mezclas previas muy diversas creadas por mecanismos aleatorios.

Críticas a la medicina molecular reduccionista

Varios autores han llamado la atención de la tendencia a ampliar el concepto de enfermedad genética, que ha pasado de estar ilustrado exclusivamente con las raras enfermedades mendelianas sencillas a abarcar las más frecuentes enfermedades multifactoriales donde la genética es sólo uno de varios factores, e incluso se está hablando de la base genética de rasgos psico(patológicos) complejos (alcoholismo, esquizofrenia, criminalidad). Esta ampliación del concepto de genético ha afectado

igualmente a enfermedades no hereditarias (el cáncer como enfermedad ocasionada por cambios genéticos en células somáticas) e incluso enfermedades infecciosas (las bacterias y virus ocasionan enfermedades debido a las instrucciones genéticas que portan). La clasificación de estos dos últimos casos como enfermedades de base genética (pero no hereditaria) ha cobrado ímpetu precisamente como justificación del enfoque terapéutico e base a terapias génicas contra algunas enfermedades (p.ej., cáncer cerebral, sida, etc.). Es obvio que el marco conceptual predominante para definir las enfermedades condiciona los intentos terapéuticos. El tema no es inocente en absoluto, puesto que si casi toda la patología tiene "causas genéticas", puede que se empiecen a descuidar los aspectos ambientales de la enfermedad, y entonces estaríamos ante un paradigma biomédico totalmente distinto, con secuelas sociales que estarían por evaluar (por ejemplo, cómo afectaría a la percepción que las

personas tienen de su afección; qué tipo de relaciones sociales se pueden ver afectadas, etc.).

Para muchos críticos, el PGH puede acarrear un peligroso cambio en la definición de salud y la enfermedad, con una orientación demasiado genética y reduccionista. Un énfasis excesivo en esta medicina genómica y molecular puede ser contraproducente, cuando la misma biología está a punto de alumbrar nuevas vías para enfrentarse a la complejidad e integración de los distintos niveles de la vida. Los retos auténticos no estarían, pues, en los brillos actuales de la medicina molecular, sino en la comprensión de los fenómenos complejos y

emergentes, lo que requerirá integración de diversos enfoques, incluida una

revitalización de la vieja fisiología.

Habría que preguntarse qué tipo de tecnología y asistencia sanitarios pretendemos poner al servicio de un objetivo muy distinto al de la Medicina de principios del siglo XX. Ahora que la media de vida es de cerca de 80 años, y que las causas de muerte están asociadas con esa mayor longevidad y con factores ambientales como la alimentación y los hábitos de vida, cabe preguntarse si el mayor reto sanitario de la humanidad es seguir prolongando las esperanzas de vida de una minoría empleando costosos y sofisticados recursos tecnológicos, o si cabe una vida que

asume su propia finitud, que emplea recursos proporcionados para mantener un bienestar medio apropiado a cada edad, y si algunos de los recursos se pueden emplear en tratar de elevar las condiciones de la parte marginada de la humanidad.

Daniel Callahan (1996) ha llamado la atención sobre la tendencia contemporánea a demonizar a toda costa la enfermedad y la muerte y a intentar luchar contra ellas por medio de atajos como el cribado genético, la terapia génica in útero, y los perfiles genéticos. Pero no hay que olvidar que la enfermedad (aunque no sea genética) y la muerte nos seguirán acompañando, y que la fuente de los mayores sufrimientos humanos (espirituales y emocionales) está fuera del dominio de lo biológico.

Arthur Caplan (1992), en un artículo titulado "Si la terapia génica es la cura, ¿cuál es la enfermedad?", ha dirigido sus dardos a los supuestos de base, no sometidos a crítica, de este reduccionismo que está acentuando el PGH:

"La comprensión que nuestra sociedad (...) tiene de los conceptos de salud,

enfermedad y normalidad jugarán un papel clave en configurar la aplicación del conocimiento emergente sobre la genética humana. Si ello es así ¿por qué es tan difícil dirigir la atención de los interesados en las consecuencias éticas, legales y sociales del conocimiento creado por el proyecto genoma humano hacia el análisis de esos conceptos?". Estas consideraciones cobran toda su actualidad si se piensa en las consecuencias que se pueden derivar de aplicar el conocimiento del PGH con determinados conceptos de enfermedad. Por ejemplo, el albinismo oculocutáneo,

¿es una enfermedad? En breve habrá sondas para "afecciones" como esta, y será posible realizar abortos selectivos. Si definimos las enfermedades como anomalías que se apartan de lo normal, o que meramente ocasionan disfunciones, independientemente del grado de manejo ambiental que se pueda ejercer sobre ellas, entonces, sí, las opciones eugenésicas y la estigmatización de lo "anómalo" se abren totalmente. Pero si tomamos conciencia de la carga de valoración implícita en nuestras ideas sobre la enfermedad, las propuestas serían de otro tipo.

58

2