

Genoma humano y medicina

M. Á. Peñalva Soto

Investigador Científico del CSIC. Madrid.

La obtención de la secuencia nucleotídica completa del genoma humano, un borrador de la cual se hará público este mismo año, representa el primer paso de una revolución de la medicina que va a provocar en un futuro inmediato un cambio conceptual en el diagnóstico y en el tratamiento de las enfermedades. Conceptos como tipado genético, terapia génica o farmacogenómica formarán pronto parte de la práctica médica diaria, tanto en la medicina hospitalaria como en la atención primaria.

El genoma humano en el contexto de la genómica

La genómica es una rama de la genética que se ocupa del estudio de los genomas. Un genoma es el conjunto de genes de un organismo y los elementos reguladores que determinan la expresión correcta de estos genes en el espacio, tiempo y tipo celular. Durante los últimos años se ha producido un desarrollo espectacular de la genómica, debido a la automatización y mejora de la

tecnología de secuenciación de DNA y del procesamiento informático de la información que han sido impulsadas por la iniciativa para resolver la secuencia de nucleótidos del genoma humano.

Las magnitudes en las que se mueve la genómica son abrumadoras. El genoma de una bacteria típica como *Escherichia coli* tiene 4,6 Mbp (megapares de bases, millones de pares de bases) que codifican para unos 4.300 genes. Para hacer una célula eucariota unicelular, como la levadura, se necesitan 13 Mbp de información y aproximadamente 6.000 genes. El salto necesario para hacer un organismo multicelular simple, como el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans*, cuyo genoma es el más grande resuelto hasta ahora, es notable, pues se requieren ¡19.000 genes y 97 Mbp de DNA!. Estas magnitudes son sin embargo "ridículas" al compararlas con las del genoma humano: 3.000 Mbp (3.000.000.000 de pb) y una estimación de 60-80.000 genes. Sin embargo, el primer borrador proporcionado por el

Human Genome Research Project muy probablemente verá la luz este año y la secuencia definitiva se hará pública en el 2003. ¿Qué supondrá este enorme avance científico para la medicina?

El análisis funcional

La información de secuencia del genoma humano con las bases en código de una letra (A, G, C, T) llenaría mil guías telefónicas de mil páginas cada una. La mayoría de esta información genética es "basura evolutiva", y representa secuencias repetidas, secuencias intrónicas o vestigios de elementos genéticos móviles (transposones) que carecen de función. La primera tarea será localizar en este exceso de información "irrelevante" (en principio) los 60-80.000 genes humanos. La segunda, asignar a cada uno de estos genes una función, ya que, por el momento, la función de más del 90% de estos genes se desconoce. La localización de genes y asignación de funciones en un genoma mediante una serie de herramientas informáticas y de genética molecular se denomina análisis funcional. En el caso del genoma humano, este análisis funcional está estrechamente ligado a la medicina, puesto que la ausencia o exceso de función génica frecuentemente causa una alteración patológica.

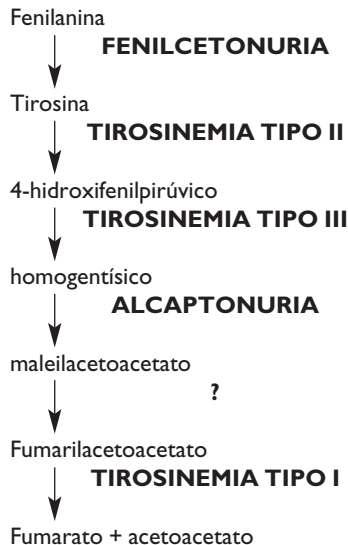
Por conveniencia, voy a introducir ahora una ruta metabólica que me servirá para facilitar alguno de los conceptos anteriores a lo largo del texto, la ruta por la cual se degradan en el hígado los aminoácidos fenilalanina y tirosina que llegan a este órgano de la dieta a través de la vena porta (Fig. 1). La deficiencia hereditaria de cualquiera de las enzimas de esta ruta causa una enfermedad. Por ejemplo, la deficiencia de fenilalanina hidroxilasa es la causa de la fenilcetonuria¹⁹, una metabolopatía que en España aparece con una frecuencia de aproximadamente 1/9.000 nacimientos¹⁷. La deficiencia de homogentísico dioxigenasa causa la alcaptonuria, una enfermedad rara, cuya incidencia es de aproximadamente 1/250.000 nacimientos^{13;16}. La alcaptonuria se caracteriza por la acumulación de ácido homogentísico en suero y orina (donde da lugar a un pigmento oscuro -ocronótico- que tiñe los pañales del bebé). Con el tiempo, este pigmento se deposita en las articulaciones y en los discos intervertebrales, dando lugar a una artritis degenerativa que no se manifiesta hasta la segunda o tercera década de vida y que los reumatólogos sólo pueden paliar con un tratamiento sintomático. Utilizaremos el ejemplo de la alcaptonuria puesto que fue la enfermedad con la que el médico

inglés Garrod descubrió a principios de siglo la existencia de enfermedades hereditarias en humanos que seguían las reglas de la genética mendeliana (la alcaptonuria es un clásico carácter recesivo)^{9,10}.

El gen que codifica para la homogentísico dioxigenasa (el gen AKU, Fig. 2) es un gen humano típico que pertenece a ese "puñado" de los pocos genes humanos conocidos. Se encuentra localizado en el cromosoma 3. De momento nos centraremos exclusivamente en su tamaño. El gen AKU "mide" 54.363 bp¹¹. La proteína por él codificada tiene 445 aminoácidos⁸, lo que requiere sola-

mente una región codificante de 1.335 pb, es decir sólo el 2,5% de esos más de 50.000 pb. Este "desperdicio" de información se debe a que los genes de los humanos, como los de cualquier organismo eucariota, están organizados en mosaico, de manera que la región codificante no es continua, sino que está repartida en pequeñas piezas (exones) separadas por largas secuencias de DNA no codificante (intrones). AKU, cuyo tamaño es equivalente a ¡un 1% del cromosoma de *Escherichia coli!*) tiene 14 exones cuyo tamaño varía entre tan sólo 35 pb y 680 pb. Sin embargo, el mayor

Figura 1. La ruta de catabolismo de fenilalanina en hígado con indicación de los bloqueos causados por deficiencias enzimáticas en cada uno de los casos.

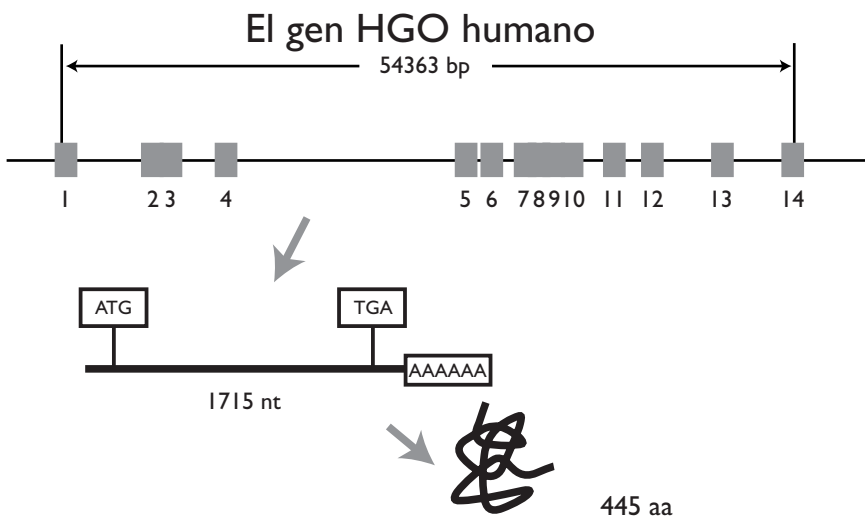


de sus trece intrones tiene 17.687 pb¹¹. Esto nos da una idea clara de que una gran mayoría de la secuencia de DNA de un gen no sirve para codificar su proteína producto. Las piezas de este mosaico (los exones) se ensamblan con absoluta precisión una vez que el gen se transcribe en RNA. Entonces, mediante un proceso (denominado "splicing") que se asemeja mucho al montaje de una película, se construye un RNA mensajero maduro. En el caso de AKU, este transcrito tiene 1,715 nucleótidos, lo que da cabida relativamente justa a la región codificante de 1.335 pb.

Las enfermedades hereditarias

Una vez tomada una instantánea de un gen prototípico, hablemos de la "traumatología" del DNA. Las lesiones en el DNA se llaman mutaciones, y pueden dividirse en dos grandes grupos: a) mutaciones cromosómicas, originadas por la pérdida o ganancia de un cromosoma (como ocurre por ejemplo en la trisomía 21) o por la reordenación de partes de un cromosoma (translocaciones, inversiones, grandes deleciones) y b) mutaciones génicas, que son cambios que afectan genes individuales, y que frecuentemente (pero no siempre)

Figura 2. El gen humano de alcaptonuria (HGO) es un gen humano típico. La información codificante está repartida en 14 exones en el transcrito primario. Dichos exones se ensamblan en un transcrito maduro de tan solo 1.715 nucleótidos (excluyendo la cola de poli (A), que codifica para una proteína de 445 aminoácidos).



están causados por cambios en uno sólo de los nucleótidos de un gen.

En nuestras células se producen continuamente mutaciones. Como es lógico, las mutaciones cromosómicas normalmente afectan la función de varios genes. Por el contrario, por simple probabilidad, la mayoría de las "pequeñas" mutaciones afectan DNA "basura", sin función, y sólo una minoría afecta a la función de un gen y pueden ser por lo tanto consideradas mutaciones génicas. Estas mutaciones génicas pueden afectar los niveles de expresión de un gen o cambiar la secuencia de la proteína por él codificada. Es difícil que una mutación génica no tenga un efecto negativo, aunque con frecuencia este efecto no es drástico desde el punto de vista de la función y sería sólo distinguible por métodos de genética de poblaciones. Sin embargo, hay desgraciadamente más casos de los que nos gustaría en los que el efecto de las "pequeñas" mutaciones sí es drástico (y patogénico). Un par de ejemplos nos servirán para fijar ideas. Existe una mutación en el gen de la homogentisato dioxigenasa en la que la delección de una A en posición 342 (el nucleótido 1 se considera el inicio del RNA mensajero) da lugar a un cambio en la pauta de lectura, con lo que la proteína, que normalmente tiene

445 aminoácidos, se trunca en el aminoácido 58¹. Este fragmento de proteína es absolutamente afuncional (y se dice que este alelo de AKU es un alelo nulo). Una sustitución de un solo nucleótido en AKU causa la substitución de la prolina en posición 230 por serina⁸, lo que desorganiza la proteína totalmente, haciéndola carecer de actividad. Este alelo P230S (así se indica la substitución en código de una letra) también es un alelo sin función ("nulo"). Vemos pues como cambios de un solo nucleótido en el gen AKU pueden desbaratar totalmente su función.

No basta sin embargo que una mutación en un gen elimine la función de su producto proteico (o que haga que funcione de manera descontrolada) para dar lugar a una lesión génica que además de ser patogénica sea transmisible a la siguiente generación. Es necesario además que esa mutación ocurra en la línea germinal de un individuo para que quede incorporada en el genoma nuclear (haploide) de los óvulos o de los espermatozoides (no discutiremos los casos de herencia mitocondrial). Así, si uno de estos gametos mutantes contribuye a un cigoto viable, el gen lesionado queda incorporado al acervo genético de esa población. En el ejemplo de AKU, si la mutación se produce en una

célula muscular, el individuo va a ser absolutamente normal (pues sus hepatocitos, donde se metaboliza la fenilalanina, son absolutamente normales). Como el genoma de esa célula muscular no se transmite a la siguiente generación, esa mutación, por otro lado intrascendente desde el punto de vista patogénico, desaparecería con el individuo. La necesidad de que una mutación se genere en la línea germinal para dar potencialmente lugar a una enfermedad hereditaria nos elimina la mayoría de las mutaciones primarias causantes de la mayoría de los cánceres, que son el paradigma de enfermedades no hereditarias, aunque de base genética, al deberse a alteraciones somáticas.

Dos grandes grupos de enfermedades hereditarias.

Las enfermedades hereditarias se agrupan en dos categorías: de herencia simple y de herencia compleja. Las enfermedades hereditarias de herencia simple se dividen en dominantes y recesivas. En las últimas, la presencia de mutaciones recesivas (en homocigosis o heterocigosis compuesta) en ambas copias de un gen dan lugar a la enfermedad. En las primeras, la presencia de un alelo con una mutación dominante en cualquiera de los dos cromosomas, en hete-

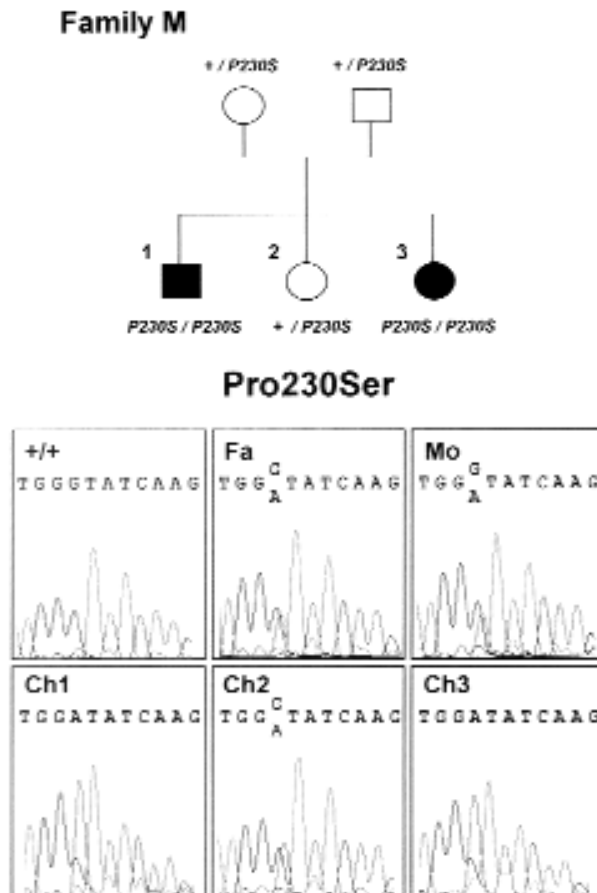
rocigosis con un alelo normal –nótese que los genes que están en los cromosomas sexuales son “especiales” en este sentido– es la causa la enfermedad. En ambos casos, la enfermedad se transmite según un patrón de herencia mendeliana simple. En las enfermedades dominantes, uno de los padres es enfermo y transmite directamente la enfermedad a la mitad de sus hijos (según la probabilidad de que hereden el cromosoma “enfermo” del padre afecto y no del sano). Por el contrario, en las enfermedades recesivas, los dos gametos deben llevar una copia defectuosa del gen (es decir, los dos padres deben ser portadores de un alelo mutante en heterocigosis con un alelo normal, puesto que no son enfermos). Es obvio que la probabilidad de que dos gametos con sendos alelos recesivos para una enfermedad se “encuentren” depende directamente de la frecuencia de esos alelos en una población. Esta frecuencia es normalmente baja, entre otras razones porque la selección natural tiende a eliminar los alelos deletéreos de las poblaciones, con lo que las enfermedades recesivas son generalmente raras, y se incrementan en poblaciones con un nivel elevado de consanguinidad, ya que ésta favorece el “encuentro” de alelos mutantes. Precisamente, una de las observaciones clave

de Garrod con la alcaptonuria (que como el lector puede suponer es el paradigma de enfermedad recesiva que voy a usar) fue que los casos de alcaptonuria

aparecían frecuentemente en la descendencia de matrimonios entre primos⁹.

En la Fig. 3 se muestra un ejemplo de una familia con alcaptonuria⁸. El padre y

Figura 3. Tipaje genético en una familia con alcaptonuria. Los individuos afectados se representan en el pedigrí con símbolos rellenos en negro. Los padres son heterocigotos para un alelo denominado P230S, con una mutación 855C→T (nótese que los cromatogramas corresponden a la secuencia de la banda complementaria, con el cambio G→A) que causa la sustitución de la prolina 230 en la proteína normal por serina en la variante patológica. Los hijos 1 y 3 heredan los dos alelos mutantes de los padres, mientras que la hija 2 es portadora de la enfermedad en heterocigosis.



la madre son portadores del mismo alelo mutante (léase la leyenda a la Figura) y dos de los hijos han heredado dos cromosomas mutantes (y son, por lo tanto, enfermos, mientras que el tercero es normal (el diagnóstico genético nos permite en este caso determinar si es portador o no de un gen mutante, como luego veremos). Una enfermedad de herencia simple puede estar causada por mutaciones en más de un gen. Es el caso, por ejemplo, de la acidemia propiónica, otra metabolopatía que resulta de una deficiencia en propionil-coenzima A carboxilasa, un enzima con dos subunidades. En este caso, la enfermedad es causada por la presencia de mutaciones recesivas en las dos copias de uno de los dos genes que codifican para estas dos subunidades⁷.

Como hemos visto, existe una razón genética para que las enfermedades que se comportan como caracteres mendelianos simples (especialmente las recesivas) sean relativamente raras. Por el contrario, las enfermedades con base genética de mayor incidencia tienen un patrón de herencia complejo, influenciado por varios genes, y se caracterizan porque la presencia de una determinada variante mutante de un gen (en términos genéticos, un alelo) no implica necesariamente que el sujeto desarrolle

la enfermedad. En este caso, las alteraciones génicas (es decir determinados alelos) implican una mayor predisposición a la enfermedad, pero la enfermedad se desarrolla como resultado de la combinación de factores genéticos (genes de predisposición) y factores ambientales, como la alimentación o los hábitos de vida. En algunos casos, la presencia de ciertos alelos puede reforzar el diagnóstico realizado por otros medios.

Paradójicamente, la identificación de los genes implicados en las enfermedades más frecuentes es, por la complejidad genética de éstas, mucho más difícil que en las enfermedades de herencia simple. Un poco más adelante explicaré cómo el Proyecto Genoma Humano facilita la identificación de "genes de predisposición", pero antes pondré ejemplos para fijar ideas. El primer ejemplo es la diabetes tipo 1 (dependiente de insulina, IDDM), una enfermedad autoinmune que afecta al 0,3-0,4% de la población caucásica. La concordancia en gemelos univitelinos es "sólo" del 30%, por lo que existen claramente, además de los factores genéticos, factores ambientales que son necesarios para el desarrollo de la enfermedad. Los factores genéticos son evidentes al estudiar parámetros como la concurrencia en fami-

lias (familial clustering, λ_s), que se define como el cociente entre el riesgo que tienen los hermanos de pacientes (6%) con respecto a la población completa (0,4%) de tener IDDM, y que es por tanto unas 15 veces superior en los primeros.

Alrededor del 40% de este riesgo está asociado con un locus de susceptibilidad localizado en la región del genoma que codifica para los antígenos de histocompatibilidad de tipo II (HLA-II)²⁰, y que se denominó IDDM1⁶. Se ha demostrado un papel principal de variantes alélicas de los genes HLA-DRB1, HLA-DQA1 y HLA-DQB1, cartografiados en esta región. Explicaré con cierto detalle la asociación significativa del gen HLA-DQB1 a la predisposición a IDDM. Este gen codifica para la proteína DQb y, como otros genes del complejo HLA-II, es altamente polimórfico (existen numerosos alelos). En estas variantes alélicas de DQb, la presencia de un residuo de aspártico en posición 57 de la proteína está asociada con un riesgo menor ("protege") de IDDM, mientras que la existencia de un codon que codifique para otro residuo en esta posición en ambos alelos (alelos Asp 57-negativos en los dos cromosomas 6 homólogos) predispone a la enfermedad²¹. Este requerimiento implica la herencia

recesiva de este factor de susceptibilidad, e indica que la estructura de la molécula DQ (un heterodímero de cadenas DQa y DQb) en la superficie de las células se ve particularmente afectada por el residuo b57 y puede predisponer a una respuesta autoinmune contra las células pancreáticas productoras de insulina.

IDDM1 es el locus principal de susceptibilidad que mapea en HLA, pero no es el único locus de susceptibilidad⁶. Trabajos clásicos han detectado otros *loci*, como el correspondiente al gen de insulina (IDDM2), que da cuenta de un 10% de la concurrencia en familias de la enfermedad y al menos otros tres *loci* más (IDDM3-IDDM5) dan cuenta en menor medida de esta concurrencia. El mensaje resumen es que la constitución genética en al menos 5 *loci* diferentes predispone (o protege) de IDDM y esta enfermedad es un paradigma de enfermedad poligénica cuya penetrancia no es total, siendo necesarios factores ambientales para el curso de la patología.

El segundo ejemplo que voy a usar, la enfermedad de Alzheimer (AD) es ciertamente de poco interés específico para un pediatra, pero es muy ilustrativo para esta exposición, puesto que se han encontrado tanto genes causativos como de susceptibilidad. Existen dos ti-

pos de AD, temprana EOAD, (frecuentemente antes de los 55 años) y tardía (después de 65 años), LOAD. En familias con EOAD se han encontrado mutaciones altamente penetrantes en tres genes (que codifican respectivamente para la proteínas amiloide, presenilina 1 y presenilina 2) que causan la enfermedad y que tienen un patrón de herencia dominante². Estas mutaciones dan cuenta de tan sólo un 2% de los casos de AD. Además de estas mutaciones causativas, se han detectado genes de susceptibilidad, el más importante de los cuales es APOE, que codifica para una apolipoproteína cuya relación causa-efecto con la enfermedad no está bien comprendida. APOE presenta 3 variantes alélicas (ϵ^2 , ϵ^3 y ϵ^4). El alelo APO ϵ_4 está asociado con LOAD familiar y esporádico⁵ y aparentemente adelanta la edad de aparición de la enfermedad¹⁵. Por lo tanto, en AD tenemos una situación donde tanto mutaciones causativas de alta penetrancia como un locus de susceptibilidad (APOE) han sido identificados.

¿Qué aporta la genética molecular humana a la medicina?

Podemos estimar que los errores genéticos son directamente responsables de unas 4.000 enfermedades como la

corea de Huntington, la fibrosis quística, la distrofia de Duchenne, la hipercolesterolemia familiar congénita, la fenilcetonuria, la alcaptonuria o la acidemia propiónica. Todas estas enfermedades se heredan según patrones de herencia mendeliana simple. Además, hemos discutido arriba la existencia de factores genéticos poligénicos (u oligogénicos) de susceptibilidad en enfermedades comunes como cáncer (por ejemplo, los genes de susceptibilidad BCRA1 y BCRA2), enfermedades cardiovasculares, diabetes, Alzheimer de aparición tardía y muchas otras enfermedades comunes. ¿En qué afecta esto a la práctica médica diaria?

En primer lugar, la identificación y caracterización de nuevos genes será una tarea que absorberá a los genetistas, médicos, bioquímicos y bioinformáticos durante los próximos 10-20 años. Con los nuevos genes identificados, aumentará a ritmo exponencial el número de aquellos implicados en patología bien directamente o como factores de susceptibilidad. Esto nos permitirá: (i) Realizar diagnóstico genético como una técnica rutinaria de apoyo al clínico (ii) Comprender la base molecular de las enfermedades con el objeto de diseñar drogas altamente específicas "a la carta" (iii) Corregir los defectos genéticos

mediante terapia génica una vez la tecnología esté suficientemente desarrollada (iv). Establecer "códigos de barras" a nivel del genoma completo del individuo que se correlacionen con su respuesta o sensibilidad a drogas terapéuticas; (v). Utilizar estos códigos de barras para correlacionarlos con predisposición a una enfermedad y realizar tratamiento preventivo. Voy a profundizar un poco en el diagnóstico genético y la farmacogenómica, dejando fuera por motivos de extensión los aspectos de terapia génica.

Diagnóstico genético en enfermedades de herencia simple

Es el examen de una muestra de DNA de una persona y frecuentemente de sus parientes cercanos. El DNA normalmente se aísla de células blancas de una muestra de sangre. En el caso de las enfermedades de herencia simple en las que se detectan mutaciones causativas de alta penetrancia en homocigosis (herencia recesiva) o heterocigosis (herencia dominante) el diagnóstico es definitivo. Este sería, por ejemplo, el caso de la mutación P230S, una mutación puntual que es la primera que identificamos en alcaptonuria. En la familia de la Fig. 3, los padres son heterocigotos para la mutación (G→A en la posición que va-

ría en esta familia) y por lo tanto son portadores pero no desarrollan la enfermedad. Por el contrario, el hijo 1 y la hija 3 tienen en ambos cromosomas, a diferencia de un individuo normal no portador, la mutación G→A en homocigosis, que da lugar a la sustitución de la Pro230 por ser en las proteínas codificadas por ambas copias del gen. Las proteínas mutantes causan pérdida de actividad enzimática, como resultado de lo cual la ruta catabólica de Phe y Tyr se interrumpe y se acumula homogentísico, el sustrato del enzima, lo que da lugar a la patología. Por el contrario, la hija 2 ha heredado un alelo normal y uno mutante, por lo que no desarrolla la enfermedad. La primera ventaja del diagnóstico genético sería pues que los probandos 1 y 3 serían inequívocamente alcaptonúricos. ¿De qué sirve esto?. Una de las razones de elegir AKU como ejemplo es que, aunque la enfermedad puede detectarse por la coloración de la orina, sus síntomas clínicos (la artrosis degenerativa de la columna y grandes articulaciones) no aparecen hasta la segunda o tercera década de vida, momento en que los pacientes acuden al reumatólogo. Por el momento no existe tratamiento, pero es razonable pensar que cuanto menor sea el aporte dietético de Phe y Tyr, menor será la acumu-

lación de pigmento en las articulaciones, retrasando y aliviando la sintomatología. A los médicos a cargo de estos pacientes les interesa, pues, disponer cuanto antes de un diagnóstico definitivo para aplicar medidas preventivas.

La segunda utilidad del diagnóstico genético de este tipo de desórdenes estriba en el diagnóstico de portadores. De no ser diagnosticada genéticamente, la hija 2 de nuestra familia ejemplo no sabría si puede transmitir o no la enfermedad. El diagnóstico genético nos permite afirmar que ciertamente puede transmitirla, pero sus descendientes con otra persona normal sólo podrían ser enfermos (homocigotos) si se cumpliera que los dos padres asintomáticos fueran portadores. En este caso, la probabilidad de tener un hijo enfermo sería del 25%. De no existir consanguinidad, la probabilidad de que esta mujer asintomática portadora tenga hijos con un varón portador es muy baja, ya que la frecuencia de portadores de alcaptonuria entre la población normal es de 1/4.000. Por ello, lo más probable es que nunca tuviera hijos enfermos, aunque la probabilidad de que un hijo suyo fuera portador sería del 50%. En caso necesario, el tipado genético del padre podría usarse para descartar que fuera portador. La alcaptonuria representa

un ejemplo prototípico de enfermedad en la que los portadores sólo pueden distinguirse por tipado genético.

Quiero usar una segunda metabolopatía como ejemplo, porque sin duda representa uno de los mayores éxitos de la medicina preventiva molecular. Se trata de la fenilcetonuria (PKU) clásica, resultante de una deficiencia de fenilalanina hidroxilasa (Fig. 1) que se hereda por un patrón recesivo similar al de la alcaptonuria. En este caso, la dieta libre de fenilalanina previene totalmente la patología, con lo que el "screening" de neonatos para hiperfenilalaninemia ha permitido la prevención de una gran cantidad de casos de subnormalidad en todo el mundo. La PKU es el ejemplo más apropiado para una nueva rama que podríamos denominar "bromogenética", y que adaptaría dietas individuales a un determinado genotipo. En España, la incidencia de la enfermedad es de 1/9.500 nacimientos¹⁸, lo que implica una frecuencia de portadores de aproximadamente un 2%. Por ello, la probabilidad de una pareja de poder tener algún hijo con PKU (es decir, de que ambos sean portadores) es del 0,04%. Ciertas mutaciones de PKU no causan pérdida total de actividad enzimática y dan lugar a niveles menos elevados de Phe en sangre que las mutaciones más

severas. Esto nos sirve para introducir un término clásico en las metabolopatías, la correlación entre el genotipo (la mutación o mutaciones) y el fenotipo clínico. Aunque el efecto de todas las mutaciones en PKU, sean más o menos severas, es corregible por la dieta si ésta se comienza desde el nacimiento. En el caso de otra severa metabolopatía, el síndrome de Lesch-Nhyan, existen numerosas mutaciones que causan distintos grados de severidad, que van desde urolitiasis en los casos más benignos a retraso mental severo con un comportamiento autodestructivo en los casos más graves. En este caso es muy importante establecer una relación entre el genotipo y el fenotipo clínico rigurosa, ya que el valor pronóstico del tipado genético podría ser de gran ayuda en el manejo de los pacientes y para los familiares de los afectados por esta dramática enfermedad.

El caso de las enfermedades neurodegenerativas, que se manifiestan sólo en las etapas relativamente tardías de la vida del paciente, merece también mención puesto que plantea interesantes cuestiones éticas y sociales que deben sin duda debatirse, para lo cual es absolutamente necesario un incremento notable de la cultura genética de los ciudadanos, que de otra manera asisti-

rán como "convidados de piedra" a esta revolución tecnológica. El grupo de trabajo del Programa de la Universidad de Stanford en Genómica, Ética y Sociedad ha publicado unas guías muy interesantes que resumen los problemas asociados a este tipo de diagnóstico y cuya lectura es recomendable a cualquier profesional del campo¹⁴. Se considera "apropiado" el tipado genético de las mutaciones altamente penetrantes de EOAD en adultos que autoricen la prueba (nunca en niños) de familias con casos previos. Una de las ventajas del tipado es la confirmación o predicción del diagnóstico. Aunque no existe tratamiento para esta enfermedad, podrían retrasarse los síntomas con intervenciones farmacológicas cuya utilidad clínica está siendo ensayada. Por otro lado, el paciente puede desear tomar decisiones no médicas sobre su futuro lo antes posible (por ejemplo, asegurarse una asistencia cuando la enfermedad se desarrolle). Finalmente, en los casos negativos, el alivio psicológico para una persona de grupo de riesgo es evidente. En cualquier caso, la relación con el paciente debe estar mediada por especialistas en consejo genético, que debe explicar claramente al sujeto los pros y contras del tipado genético. Un caso similar se plantea en otras enfermedades

neurodegenerativas de alta penetrancia, como la corea de Huntington.

El código de barras genético: los SNPs

No existe un único genoma humano. Los genomas de las personas normales, incluso de parientes muy cercanos, son diferentes. Las variaciones más frecuentes son los "SNPs" (léase "s-nips"), acrónimo de "single nucleotide polymorphism". Un SNP es un polimorfismo o diferencia entre dos individuos que ocurre en una base determinada del genoma, pongamos la posición 1.234.538 del cromosoma 18, que –supongamos–, en el 73% de la población es T mientras que en el 27% restante es A. Existe un polimorfismo de este tipo aproximadamente cada pocos cientos de bases de DNA, con lo que el número de sitios polimórficos de un genoma es enorme. Organismos públicos, como el National Human Genome Research Institute están creando bases de datos en las que se espera tener 50,000 SNPs en un plazo tres años y en las que se incluye la metodología para tiparlas (determinar su presencia o ausencia en un individuo). Los avances tecnológicos permiten el tipado de una gran cantidad de SNPs por individuo, lo que se traduce en una especie de "código de barras"

que define su genoma. Estos estudios pueden hacerse a nivel poblacional, lo que impulsará enormemente la búsqueda de desequilibrios de ligamiento de genes implicados en patología con determinados códigos de barras y su utilización como técnica de cartografiado e identificación de estos genes en una determinada región del genoma^{3,4,12}. El principio es muy simple. Supongamos una determinada región de un cromosoma en la que surge por mutación de un gen en la línea germinal un nuevo alelo que causa una alta predisposición a, pongamos por caso, enfermedad coronaria. En los individuos que porten este alelo, los SNPs que se encuentren físicamente cercanos no serán fácilmente separados en los descendientes por recombinación genética a lo largo de las generaciones, mientras que aquellos que estén lejanos recombinarán libremente dando lugar a nuevas combinaciones. De esta manera, en estudios poblacionales ha sido posible identificar la asociación física de una determinada combinación de SNPs –un código de barras– con un alelo patogénico o de susceptibilidad, lo que ha servido para cartografiar y localizar ese determinado gen en el genoma. Naturalmente, es de capital importancia en estos estudios el disponer de poblaciones genéticamente

homogéneas para disminuir el ruido de fondo, lo que es la base del interés reciente de las compañías farmacéuticas en tipar poblaciones bien caracterizadas desde el punto de vista médico y genéticamente aisladas, como la población de Islandia.

La farmacogenómica: las aplicaciones del genotipado a la terapia farmacológica.

Ya Garrod formuló en 1931, en su obra clave en la historia de la Medicina moderna "The inborn factors in disease", el concepto de la individualidad bioquímica de los seres humanos. Dichas diferencias bioquímicas entre individuos, que hoy por supuesto sabemos que son el reflejo de diferencias genéticas, son la base de la diátesis, pero también la base de la respuesta diferencial de diferentes pacientes a un tratamiento farmacológico. En algunos casos, estas diferencias radican en enzimas individuales, y hay numerosos ejemplos de cómo determinadas variantes alélicas de un gen (es decir, variantes del enzima por él codificado) influyen en la respuesta a un tratamiento. La rama de la genética que estudia la influencia de los factores heredables en la respuesta a los fármacos se denomina farmacogenética. Hoy la farmacogenética puede am-

pliarse a estudios a nivel de genoma completo, no a nivel de un gen, y ha pasado a denominarse farmacogenómica. En una situación ideal, debería ser posible realizar estudios poblacionales que permitieran asociar un determinado código de barras de SNPs (una manera de concretar la individualidad bioquímica de una persona) con el éxito o fracaso de un tratamiento, y se vislumbra un futuro no muy lejano en el que los pacientes acudirán a las consultas con su "tarjeta genética", que permitiría al médico conocer en primer lugar la predisposición de ese genotipo –código de barras– a una enfermedad determinada, lo que sin duda puede representar una importante ayuda en el diagnóstico. En segundo lugar, permitirá al médico disponer de información sobre la probabilidad de respuesta adecuada que ese genotipo tiene a un determinado tratamiento. El médico podrá informar al paciente de las posibilidades de éxito y de efectos secundarios perniciosos, de una serie de alternativas para su tratamiento.

Un ejemplo muy ilustrativo de las posibilidades de la tecnología molecular, en el que confluyen la farmacogenómica y el tipado genético molecular, se ha publicado recientemente. Se trata de la clasificación y pronóstico de un grupo

determinado de linfomas. En este caso, la caracterización genotípica no se ha realizado con SNPs sino con perfiles de expresión génica, basados en la utilización de los cada vez más accesibles "chips de DNA" o "microarrays". Estas herramientas moleculares, basadas en técnicas simples de biología molecular, permiten el análisis de la expresión (mediante la medida de la cantidad de RNA mensajero) de miles de genes de un tejido (en este caso, células B tumorales). Los autores utilizaron un "linfocip", con el que pudieron analizar simultáneamente la expresión de ¡16.000 genes! para dividir este grupo de linfomas en dos subgrupos que dife-

rían muy significativamente en su pronóstico y que antes eran indiferenciables. 16 de 21 pacientes (84%) con un linfoma DLBCL del grupo "malo" habían fallecido, lo que contrastaba con unas cifras de "sólo" 6 de 19 (32%) de los pacientes con un DLBCL del grupo "bueno". Hasta el momento no existían técnicas que permitieran al patólogo diferenciar entre estos subgrupos. Evidentemente, el valor predictivo de esta prueba determina el tipo de tratamiento más o menos agresivo al que sean sometidos los pacientes con uno u otro tipo de linfomas, lo que puede ayudar a mejorar su pronóstico en un futuro cercano.

Bibliografía

Aquellos que quieran profundizar podrán utilizar las revistas y libros de texto especializados, o los sitios de "web" con información científica contrastada, algunos de los cuales pueden encontrarse en lista aneja y en los que se corre el "peligro" de ser engullido durante horas.

1. Libros:

Un excelente libro de Texto:

Human Molecular Genetics, por Strachan T y Read A. Bios Scientific Publishers Ltd., 1996.

(se puede comprar en:

www.Bookshop.co.uk/BIOS/)

2. Recursos en la web:

<http://www.nhgri.nih.gov/HGP/>

Página principal del Proyecto Genoma humano. Los enlaces a las actividades y bases de datos están en:

<http://www.nhgri.nih.gov/Data/>

<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>

Online Mendelian Inheritance in Man: La base de datos más usada de enfermedades congénitas. La utilidad de búsqueda por palabras clave (enfermedades, por ejemplo) es muy útil para localizar rápidamente lo que a uno le interesa.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/LocusLink/>

Locuslink proporciona una información fácilmente accesible de loci genéti-

cos implicados en enfermedades, con enlaces a secuencia, fenotipo, OMIM y sitios de web relevantes.

<http://www.geneclinics.org/index.html>

Excelente base de datos de conocimiento médico que relaciona el tipado genético con el diagnóstico, cuidado y consejo genético de individuos y familias con enfermedades hereditarias.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>

La base de datos pública de SNPs. Objetivos y utilidades.

Terapia génica

[http:](http://www.thelancet.com/newlancet/sub/)

[//www.thelancet.com/newlancet/sub/supplements/vol354s1/body.article1.html](http://www.thelancet.com/newlancet/sub/supplements/vol354s1/body.article1.html)

Referencias bibliográficas:

1. Beltrán-Valero D, Peterson P, Luopajarvi K, Matintalo P, Alho A, Konttinen Y, Krohn K, Rodríguez de Córdoba S, Ranki A. *Mutational analysis of the HGO gene in Finnish alkaptonuria patients*. J Med Genet 1999; 36: 922-923.

2. Champion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Michon A, Martín C, Charbonnier F, Raux G, Camuzat A, Penet C, Mesnage V, M. Martínez, Clerget-Darpoux F, Brice A, Frebourg T. *Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic*

heterogeneity, and mutation spectrum. Am J Hum Genet 1999; 65: 664-670.

3. Chakravarti A. *It's raining SNPs, hallelujah?*. Nat Genet 1998; 19: 216-217.

4. Chakravarti A. *Population genetics-making sense out of sequence.* Nat Genet 1999; 21: 56-60.

5. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. *Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families [see comments].* Science 1993; 261: 921-923.

6. Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copeman JB, Cordell HJ, Pritchard LE, Reed PW, Gough SC, Jenkins SC, Palmer SM. *A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes [see comments].* Nature 1994; 371:130-136.

7. Fenton WA, Rosenberg LE. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism p. 1423-1449. In C.R. Scriver, A.L. Beaudet, and D. Valle (ed.), *The metabolic and molecular basis of inherited diseases.* McGraw-Hill, New York.

8. Fernández-Cañón JM, Granadino B, Beltrán-Valero D, Renedo M, Fernández-Ruiz E, Peñalva M A, Rodríguez de

Córdoba, SR. *The molecular basis of alkaptonuria.* Nat Genet 1996; 14: 19-24.

9. Garrod, AE. *The incidence of alkaptonuria: a study in clinical individuality.* Lancet 1902; 2:1616-1620.

10. Garrod AE. *The Croonian Lectures on inborn errors of metabolism. Lecture II. Alkaptonuria.* Lancet 1908; 2: 73-79.

11. Granadino B, Beltrán-Valero de Bernabé D, Fernández-Cañón JM, Peñalva MA, Rodríguez de Córdoba S. *The human homogentisate 1,2-dioxygenase (HGO) gene.* Genomics 43, 115-122.

12. Halushka MK, Fan JB, Bentley K, Hsie L, Shen N, Weder A, Cooper R, Lipshutz R, Chakravarti A. *Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis.* Nat Genet 1999; 22: 239-247.

13. La Du BN. 1994. Alkaptonuria, p. 1371-1379. In C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W. Sly, and D. Valle (ed.), *The Metabolic Basis of Inherited Disease.* McGraw Hill, New York.

14. McConnell LM, Koenig BA, Greely HT, Raffin TA. *Genetic testing and Alzheimer disease: has the time come? Alzheimer Disease Working Group of the Stanford Program in Genomics, Ethics & Society.* Nat Med 1998; 4: 757-759.

15. Meyer MR, Tschanz JT, Norton MC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Wyse BW, Breitner JC. *APOE genotype predicts when-not whether-one is pre-disposed to develop Alzheimer disease [letter] [see comments]*. *Nat Genet* 1998; 19: 321-322.
16. O'Brien WM, La Du BN, Bunim JJ. *Biochemical, pathological and clinical aspects of alkaptonuria, ochronosis and ochronotic arthropaty: Review of world literature (1584-1962)*. *Am J Med* 1963; 34: 813-838.
17. Pérez B, Desviat LR, Ugarte M. *Analysis of the phenylalanine hydroxylase gene in the Spanish population: mutation profile and association with intragenic polymorphic markers*. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 95-102.
18. Pérez-González B, Ruiz-Desviat L, Martínez-Pardo M, García-Muñoz MJ, Ugarte M. *Fenilcetonuria: 30 años de investigación y prevención*. *Anal Real Acad Farm* 1999; 65: 271-304.
19. Scriver CR, Eisensmith RC, Woo SL, Kaufman S. *The hyperphenylalaninurias of man and mouse*. *Annu Rev Genet* 1994; 28: 141-65: 141-165.
20. The MHC sequencing consortium. *Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex*. *Nature* 1999; 401: 921-923.
21. Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. *HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus*. *Nature* 1987; 329: 599-604.

