

2. La incidencia previsible de la medicina genómica en la mejora de la calidad de vida

MANUEL ORTEGA MATA

INTRODUCCIÓN

Tras el establecimiento de la secuencia del genoma humano es evidente que estamos viviendo un cambio, que podríamos denominar revolucionario, en los campos de la práctica de la medicina y la farmacia, que está comenzando a emerger con pasos firmes sustentado en bases científicas irrefutables.

Las opiniones de los expertos tal vez sean discrepantes en cuanto a la velocidad, el alcance o los cambios específicos previsibles que se espera de dicha transformación, pero en lo que sí se ponen de acuerdo es que la revolución genómica alterará fundamentalmente el ejercicio de la práctica de la medicina y la farmacia.

Durante décadas, el papel de la medicina genética ha estado enfocado principalmente en el cuidado de la salud de unos pocos pacientes, con enfermedades relativamente poco comunes causadas por mutaciones en un solo gen (desórdenes monogénicos). Sin embargo, al ser lo más común las alteraciones de varios genes (desórdenes poligénicos), así como las interacciones de genes, medio ambiente y estilo de vida, en momentos concretos de nuestro ciclo vital, ello será lo que determine si un individuo desarrollará o no una enfermedad particular y con que grado de severidad.

Estamos pues entrando en un periodo de transición en el cual los conocimientos genéticos específicos, han de ser críticos para proporcionar cuidados efectivos para la salud de toda la población, lo que es evidente que tendrá su reflejo en lo que se conoce como calidad de vida. El énfasis que la medicina actual pone en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, debe

dejar paso, de manera preferente, a todo lo que represente predicción y prevención de las mismas. Consecuencia todo ello del profundo conocimiento que se espera tener de los factores, tanto genéticos como no-genéticos, que predisponen a los procesos patológicos, facilitando así actuaciones terapéuticas tempranas.

Basándose en el desarrollo previsible de la genómica y de la proteómica humana, los responsables del proyecto de genoma humano en el Instituto Nacional de Salud en USA se atreven a predecir los logros futuros en cuanto a los cuidados de la salud se refiere (1).

Para el año 2010 se espera poder disponer de técnicas analíticas que nos permitan conocer las características genéticas individuales en relación con determinadas patologías, lo que permitirá actuaciones preventivas para muchas de ellas, ya que para entonces muchos médicos y farmacéuticos de atención primaria, estarán capacitados para ejercer la medicina genética y la terapia individualizada.

También para esas fechas, la gran mayoría de los problemas técnicos relativos tanto a los aspectos analíticos genéticos de óvulos fecundados, en la fase previa a su implantación intrauterina, como a los derivados de la propia implantación, habrán sido superados. En este punto, me gustaría creer que somos muchos los que pensamos que un mal uso de estos grandes avances nos puede llevar, a que algunos profesionales transformen la medicina genética en algo tan condenable como puede ser la medicina eugenésica en el tratamiento embrionario. Mas adelante se insiste en este tema.

Para el 2020 es previsible que se pueda disponer de nuevos medicamentos elaborados sobre bases genéticas, para enfermedades tales como la diabetes o hipertensión; la identidad genética de los tumores será la base de la terapia anticancerosa y habrá una gran transformación en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades mentales.

Para el 2030 ya se conocerán aquellos factores ambientales que predisponen, o son agentes causales de determinadas enfermedades, por lo que atendiendo al polimorfismo genético de las personas la medicina preventiva será también individualizada.

Conscientes las autoridades responsables de la salud pública, de la importancia de facilitar información genómica actualizada, la denominada Oficina de Genómica y Prevención de Enfermedad, edita semanalmente un documento que se distribuye ampliamente, el *CDC Office of Genomics and Disease Prevention (OGDP) Genomics weekly update* (<http://www.cdc.gov/genomic/update/current.htm>).

La misma OGDG publica también una serie con periodicidad mensual sobre estos temas bajo el título: *Public Health Perspective Series* (<http://www.cdc.gov/genomic/info/perspective.htm>) que evidentemente puede servir de ayuda para mantener actualizados nuestros conocimientos en los temas de genética humana.

Por lo que a nosotros atañe, debemos tener presente que un gran número de los medicamentos usados hoy día, van destinados a combatir los síntomas de una enfermedad más que para eliminar las causas de las mismas. Aquí en este grupo, es fácil identificar medicamentos usados, por ejemplo, en enfermedades tales como: procesos inflamatorios, trastornos cardiacos, procesos cancerosos, enfermedades mentales, problemas gastrointestinales, etc. No cabe duda de que si se logra alcanzar un profundo conocimiento de las causas genéticas que conducen a la aparición de la patología, ello será una ayuda fundamental para el desarrollo de nuevos medicamentos capaces de actuar directamente sobre la causa de la enfermedad.

De aquí que el tratar de identificar el mayor número de genes posible, que participan en el proceso patológico, es de vital importancia. Un primer paso para traducir datos de secuencias genómicas en información clínica de utilidad, es el de poder caracterizar los procesos de expresión genética.

Lo que los investigadores buscan, a la hora de conocer la función de un gen determinado, es identificar las proteínas codificadas por dicho gen por el hecho de su expresión, además de establecer donde y en que momento, dichas proteínas son expresadas.

Un punto clave en este proceso es el factor de transcripción, una molécula en la que cabe distinguir dos partes: una enlazante por la cual se une al gen y otra porción de activación que es la que pone en marcha la producción del RNA.

Resulta fácil de entender que si un determinado proceso patológico viene determinado por la expresión o no de un gen, el factor de transcripción se convierte en una diana terapéutica para el ensayo de medicamentos capaces de controlar su actividad.

TRANSCRIPTÓMICA

La posibilidad de trasladar los conocimientos de las secuencias genómicas a la información clínica es una realidad gracias a las tecnologías analíticas que nos permiten conocer los procesos de expresión génica.

Para ello se dispone de los denominados ADN chips (ADN arrays) con los cuales se puede llevar a cabo tres tipos de análisis moleculares: a) la expresión génica de células o tejidos determinados, que al hacerlo en condiciones seleccionadas nos permitirá conocer la respuesta transcripcional celular a estímulos fisiológicos específicos o patogénicos; b) la investigación de la existencia de un polimorfismo genético de un simple nucleótido con los SNP chips, base de los estudios de farmacogenómica, y al que nos referimos en una publicación anterior (2) y c) proporcionar la secuencia del ADN para el estudio de mutaciones predeterminadas en un gen, base del conocimiento de anomalías genéticas.

Si tenemos en cuenta que se pueden hacer análisis simultáneo de miles de genes, el perfil de la expresión génica junto a la magnitud de su transcripción, constituirán el transcriptoma de las células en estudio.

Para hacernos una idea del papel que las Técnicas Instrumentales Analíticas están jugando en el desarrollo de la genómica, bastaría tener en cuenta que los datos obtenidos con *ADN arrays* en un solo ensayo, representaría el trabajo de un investigador durante unos veinte años usando las técnicas tradicionales.

En líneas generales, se puede hablar de tres métodos de estudio: los *micro-arrays* de ADN complementario; los *arrays* de oligonucleótidos y la técnica de SAGE (*serial analysis of gene expression*).

En el primero de los casos, fragmentos de ADN complementario de genes conocidos de un tamaño superior a los 1000 pares de bases, se sitúan en una lámina de vidrio. Por otra parte, se extrae el RNA mensajero de las células en estudio, que puede proceder tanto de tejido sano como patológico, que servirán para la obtención de los correspondientes ADN complementarios, los cuales se marcarán con unos fluoróforos al utilizar nucleótidos marcados. Por lo general se usan dos fluoróforos diferentes, uno para la muestra problema y otro para el testigo.

Si tenemos en cuenta que tras esta experiencia únicamente aquellos genes que han sido expresados, formarán los correspondientes ADN complementarios, las medidas de fluorescencia a las correspondientes longitudes de onda de excitación, nos permitirán conocer los genes expresados y en qué cuantía, por las señales de intensidad de la fluorescencia emitida.

Los *arrays* de oligonucleótidos se preparan con la tecnología conocida en la industria electrónica, usando los principios de fotolitografía, que permite sintetizar sobre el mismo soporte, cortos segmentos de ADN de no más de 25 pares de bases. En esta técnica, cada gen estará representado por múltiples secuencias de nucleótidos, que constituyen la longitud total de su ADN complementario.

Para la medida, los RNA de control y testigo se marcan con una fluoróforo, lo que permitirá representar los datos en unidades de fluorescencia emitida.

Por su parte, la tecnología SAGE está basada en el principio básico de que un segmento corto de 9 a 10 pares de bases de la secuencia del ADN (**tag**) es de una complejidad suficiente, como para identificar un único gen transcrito.

Estos *tag* se obtienen mediante la acción de enzimas de restricción específicas, sobre el ADN complementario que se ha sintetizado a partir del RNA mensajero total de las células de estudio. Para ampliar la información nos remitimos a los trabajos de Polyak (3) y Ye (4), así como a los laboratorios fabricantes de los *arrays* (5 y 6).

Nevins y colaboradores (7) ponen de manifiesto en su trabajo que los datos genómicos, particularmente los de expresión génica con los *ADN arrays*, tienen el potencial de suministrar enorme información para la investigación de fenotipos biológicos, aunque con el inconveniente de que pueden estar caracterizando grupos amplios de individuos, lo que puede ser un inconveniente a la hora de aportarnos predicciones seguras para pacientes individuales.

Una posibilidad de resolver la heterogeneidad de los grupos es la de hacer uso del perfil de la expresión de múltiples genes, que nos definen mejor las características individuales que cualquier otra expresión genética de un solo gen. Sistemas de clasificación estadística nos permiten obtener diagramas múltiples que los autores denominan **metagenes**, de entre los cuales se pueden seleccionar los más capaces de resolver la heterogeneidad biológica. Además, se puede disponer de un mecanismo para combinar múltiples formas de datos, tanto genómicos como clínicos que hace más efectiva la caracterización de los pacientes y hacer posible la medicina predictiva individualizada.

No es necesario extenderse mucho en comentar la necesidad de hacer uso de las técnicas más avanzadas de la bioinformática, para obtener resultados finales de expresión de los miles de datos que proporciona un *array* de ADN. De ahí el interés de los investigadores por establecer un lenguaje que les permita integrar e intercambiar datos. El más extendido es el XML (<http://www.w3.org/XML/>). Existe también una sociedad de *microarray gene expression data* (MGED) (<http://www.mged.org>) que propone un modelo estándar para poder interpretar con la menor información, sin ambigüedad, los experimentos con *microarrays* (8).

Frente a esta tendencia de facilitar en lo posible, el intercambio de datos, nos encontramos también con algo que ha sembrado el temor en la comunidad científica de la medicina genómica, el empleo de patentes. Efectivamente ya existe una patente que privatiza un método de expresión génica con *arrays* de

ADN en los análisis de muestras clínicas. Concretamente, la patente cubre cualquier uso de su método, —un algoritmo— que permite valorar la expresión génica entre muestras, concretamente entre dos tipos de leucemia (*Science. Vol 302, 1878, 2003*)

Los perfiles de la expresión génica en muestras biológicas ya ha comenzado a producir sus frutos en muy diferentes áreas.

Citemos por ejemplo en el área de hepatología, los análisis histológicos en pacientes con hepatitis viral del tipo C, en los que se aprecia una sobre-expresión de genes relacionados con la inmunomodulación y la apoptosis (9). Igualmente, se ha visto un incremento en la expresión de los genes c-jun, c-myc y c-fos en pacientes con cirrosis biliar primaria (10).

En el campo de la medicina cardiovascular nos podemos referir al trabajo de Patino (11) dedicado a las aplicaciones actuales y futuras, mediante el empleo de la técnica SAGE, que con sus requerimientos de muestra mínimos permite salvar la barrera que representa la obtención de biopsias cardiacas calificadas de alto riesgo.

Gnatenko y colaboradores estudian un elemento de tanta importancia para la función cardiovascular como son las plaquetas, mostrándonos que su perfil de transcripción es de origen mitocondrial, lo que era de esperar dada su ausencia de núcleo (12).

En el campo de la oncología es donde está más desarrollada la técnica, y son muy numerosos los trabajos sobre la expresión génica. Tal es el caso de Pomeroy y colaboradores (13) que de acuerdo con el perfil de expresión en *microarray*, se pueden establecer no solo el diagnóstico y clasificación, sino también el pronóstico, en procesos relacionados con el sistema nervioso central. Lo mismo podemos encontrar en el trabajo de Beer y colaboradores (14) en relación con el cáncer de pulmón, o en el de Lu y colaboradores (15) en el cáncer de células renales.

Hofmann y colaboradores (16) nos muestran en su trabajo referido a pacientes con leucemia linfoblástica aguda, con cromosoma Filadelfia positivo, que con el estudio de la expresión génica en células extraídas de médula ósea se puede predecir la respuesta medicamentosa del inhibidor de la tirosin-quinasa (imatinib Glivec, Novartis) con el uso de *arrays* de oligonucleótidos (Affymetrix) que les permite identificar los correspondientes perfiles de expresión génica. Según los autores han identificado 95 genes, de los 2.500 evaluados, cuya expresión génica distingue claramente a los pacientes sensibles al medicamento de los resistentes al mismo.

Igualmente la expresión de otros 56 genes dará indicación de que, tras la inicial respuesta favorable, el paciente desarrollará una resistencia secundaria al imatinib.

Consideran que la aparición de dicha resistencia responde a la acción simultánea de muchos factores, los cuales pueden ser susceptibles a la correspondiente acción farmacológica.

Por otra parte, las células leucémicas resistentes presentaban altos niveles de expresión para la tirosinquinasa y de dos ATP sintetasas (ATP5A1 y ATP5C1), mientras que estaban disminuidas la expresión del gen pro-apoptótico BAK1 y la del gen controlador del ciclo celular P15INK46.

En el caso del cáncer de mama nos encontramos, de acuerdo con la información que facilita la revista *Science* (vol. 303, 1754-1755, 2004) que se ha traspasado la fase de investigación, al disponer de una prueba de uso clínico que permitirá distinguir, por la expresión génica, aquellas pacientes que desarrollarán metástasis en el proceso de su enfermedad, de las que se verán libres de ellas.

La compañía Genomic Health (Redwood City, California) suministra el que denomina **Oncotype DX**, que permite analizar el perfil de actividad de los genes en el tumor de mama. Para ello hicieron una selección de 250 genes por su influencia previsible en la progresión del cáncer, entre los cuales encontraron que 16, como un grupo, tenían un alto valor para predecir si el correspondiente tumor desarrollará un posterior proceso de metástasis. Utilizando los datos de la expresión génica de dichos 16 genes y 5 más de control, han validado la técnica con un panel de 668 tumores de mama que habían permanecido convenientemente conservados, y de los que se conocía todo el historial clínico posterior de las pacientes. Los resultados analíticos les permitieron establecer tres grupos diferentes de pacientes, en relación a su riesgo de desarrollar metástasis: bajo, intermedio y alto. En el primer grupo sólo un 6,8% de las pacientes habían desarrollado metástasis después de 10 años, frente a un 30,5% en el grupo de alto riesgo. Los responsables del laboratorio manifiestan que el **Oncotype DX**, es sólo el primer paso, ya que están estudiando el desarrollo de uno posterior que permita identificar algo tan importante como es, poder conocer en qué medida la paciente se beneficiará del tratamiento quimioterápico.

Otro laboratorio, Agendia (Amsterdam) en colaboración con el Netherlands Cancer Institute, ha desarrollado una prueba analítica semejante a la anterior, con la denominación de **Mamma-print**, basada en los resultados obtenidos tras el estudio de la expresión de 25.000 genes en un grupo de 117 mujeres, de me-

nos de 52 años, que tenían en común el no tener afectados sus nódulos linfáticos, y que el desarrollo posterior de su enfermedad, tras el tratamiento quirúrgico, fue seguido durante cinco años.

Tras dicho estudio de los correspondientes perfiles de expresión génica, identificaron 70 genes que les permitía establecer un diagnóstico de bueno o mal pronóstico, en relación con el desarrollo posterior de metástasis.

Como prueba básica para establecer la validez del estudio identificaron el perfil de expresión génica en 295 tumores mantenidos en congelación en el Netherlands Cancer Institute. Del resultado de dicho estudio, y de acuerdo con el historial clínico de cada una de las pacientes de las que procedían los correspondientes tumores, el 56% de las clasificadas por su perfil de expresión génica en el grupo de mal pronóstico, desarrollaron metástasis distantes después de 10 años.

Por su parte, entre las clasificadas en el grupo de buen pronóstico, sólo el 13% desarrollaron metástasis pasados los 10 años.

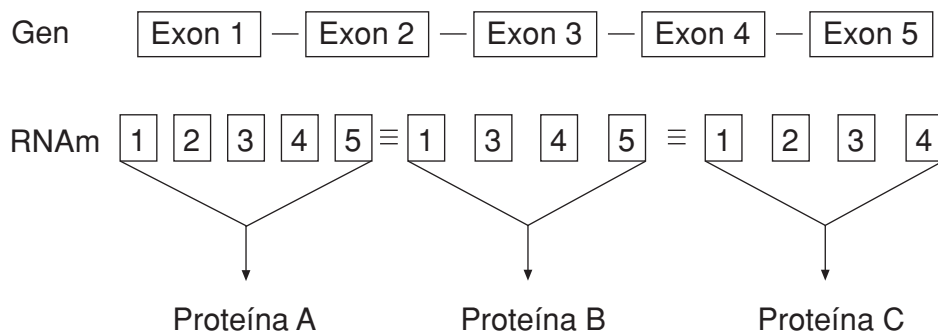
Es evidente, a la vista de lo anterior, que no estamos todavía ante pruebas de certeza absoluta, pero no cabe duda que se ha dado un gran paso hacia ello y que el futuro es muy prometedor. Se puede esperar mucho del tratamiento informático, algoritmos, de los datos experimentales, así como de entrecruzar los datos de expresión de los genes, con el estudio simultáneo del proteoma celular.

PROTEÓMICA

El campo de la proteómica incluye el análisis y caracterización de las proteínas en las células, lo que nos va a permitir dar respuestas a muchos interrogantes, tanto en investigación básica como en aplicaciones clínicas. Esto último ya lo hemos visto (2) en lo que puede denominarse proteómica diferencial, cuando se comparan las proteínas expresadas en una muestra de células procedentes de un individuo normal, con las de un paciente determinado, en la esperanza de poder establecer una relación con una enfermedad específica, o incluso con un estado particular de dicha enfermedad, a través de la comparación de los correspondientes perfiles de expresión proteica.

A diferencia de la genómica que se puede considerar como una ciencia estática, ya que la muestra de estudio no varía con el tiempo, la proteómica, por su parte, es una ciencia muy dinámica, debido a que el conjunto de las proteínas de una célula, lo que denominamos su **proteoma**, puede decirse que está

cambiando en cada unidad de tiempo. Ello es debido, en primer lugar, al hecho ya conocido de que un gen es capaz de generar más de una proteína en virtud de un proceso alternativo de enlace de los correspondientes exones, para formar el RNA mensajero, como representamos en el gráfico siguiente.



Al proceso anterior puede unirse el hecho de que, el denominado codón de parada, se puede situar en diferentes porciones del RNA, lo que condicionará el tamaño molecular de la proteína sintetizada. Los tres codones de parada son: TGA, TAA y TAG.

Finalmente, a los procesos anteriores habrá que añadir el hecho por el cual las proteínas se modifican postraduccionalmente, mediante fosforilación, glucosilación, acetilación, sulfatación, etc., hasta algo más de 200 diferentes formas descritas. Estos cambios llevan consigo modificaciones estructurales de las proteínas, con la repercusión subsiguiente en las propiedades fisiológicas de las mismas y su función.

El papel de la proteómica no podemos reducirlo a la simple elaboración de una gran lista de todas las proteínas del cuerpo y sus posibles modificaciones postraduccionales, lo que ya de por sí sería meritorio, sino que lo más importantes es estudiar a las proteínas ligadas a su contexto celular, tisular y fisiológico. Ello nos permitirá obtener un flujo de información de su papel dentro de las células y en el propio organismo, así como de las redes de interacción proteína-proteína tanto intracelulares como extracelulares, que pueden tener un gran efecto sobre la biología funcional. En definitiva, que nos puede permitir el conocimiento de los mecanismos de las enfermedades, y por consiguiente, facilitar el diseño racional de medicamentos dirigidos a blancos terapéuticos definidos.

El reto que representa el estudio del proteoma humano, supera, por su complejidad, al que representó el establecimiento del genoma humano, pero ello no

ha sido obstáculo para que se haya puesto en marcha la denominada HUPO, *Human Proteome Organisation* (www.hupo.org), con el fin de promocionar actividades científicas y educacionales, establecer técnicas de estudio en proteómica, diseminar información sobre el proteoma humano y de aquellos organismos modelos, así como coordinar las iniciativas públicas sobre el tema.

En el momento actual, se han consolidado grupos de trabajo con las iniciativas siguientes: a) el HPPP, *Human Plasma Proteome Project*; b) HBPP, *Human Brain Proteome Project*; c) HLPP, *Human Liver Proteome Project*, d) obtención de anticuerpos contra miles de proteínas.

Los investigadores en el grupo de HPPP (17) intentan establecer técnicas analíticas de investigación de las proteínas, que permitan superar las dificultades que presentan, por ejemplo, el tamaño molecular de las mismas, que pueden variar desde 5.000 daltones a 1.000.000 o más; sus diferencias en las respectivas cargas eléctricas de que son portadoras, sus, a veces, extremadamente pequeñas concentraciones de algunas de ellas, etc. Afortunadamente podemos comprobar, una vez más, que las modernas Técnicas Instrumentales Analíticas están superando todos estos retos, como veremos posteriormente al reseñar las características de algunas de ellas, como 2-D electroforesis en geles, cromatografía líquida, espectrometría de masas, en sus versiones MALDI-TOF y SELDI-TOF, etc.

Demostativo de las dificultades que para el estudio de las proteínas antes apuntábamos, podemos citar la información que facilita el grupo de trabajo en el *National Cancer Institute of Frederick* (Maryland), según la cual, usando dichas técnicas, han visualizado hasta 1.444 proteínas plasmáticas diferentes, muchas de ellas se encuentran unidas a la albúmina, que está actuando como una verdadera esponja molecular. El número de proteínas y péptidos enlazados a la albúmina ha sido de 341, siguiéndole en capacidad de enlace a la albúmina otras de las proteínas plasmáticas, las inmunoglobulinas.

No cabe duda que, entre este gran número de proteínas y polipéptidos que se encuentran en la sangre, se podrán identificar multitud de biomarcadores de utilidad en la clínica. Liota, Ferrari y Petricoin (18) son de la opinión de que cada una de las células de nuestro organismo deja una marca de su estado fisiológico por los productos que ella vierte a la sangre, bien sea de desechos o como señales para las células vecinas. Citan como ejemplo, a las células que mueren vía apoptosis, quienes dejarán lo que podría denominarse una firma proteica, bien diferente a la que producirán aquellas otras que mueren por falta de oxígeno, o por un proceso infeccioso.

Dado que los tejidos están regados por la sangre, las proteínas o sus fragmentos podrán pasar a ella, bien pasivamente o por un transporte activo. En este último caso, las proteínas pasarán intactas al igual que ocurrirá cuando a consecuencia de un determinado estado patológico, las paredes vasculares se hacen permeables a las mismas.

Pasivamente pasarán a la sangre fragmentos de proteínas que se han producido por degradación y digestiones enzimáticas. Así pues, el proteoma de la sangre vendría constituido por una mezcla de proteínas intactas más los fragmentos de proteínas mayores.

El tamaño de la proteína determinará la rapidez con que es aclarada de la sangre a su paso por el hígado, o por filtración renal. Las proteínas de bajo peso molecular son aclaradas rápidamente, con vidas medias de unas pocas horas, mientras que en las de mayor tamaño esta vida media se extiende, hasta por ejemplo, 19 días para el caso de la albúmina.

Todo esto tiene su interés a la hora de plantearse protocolos analíticos, ya que la concentración en un tiempo dado de estos fragmentos proteicos de bajo peso molecular, estará en función de la cinética correspondiente a la entrada en la sangre y su aclaramiento. Se piensa pues, en la posibilidad de utilizar transportadores que actuarán acumulando, y amplificando así, la baja concentración de los biomarcadores de interés.

Por todo lo anterior, no es aventurado pensar que llegará un momento en el que, con una pequeña muestra de sangre se podrá estar conociendo el estado fisiológico, o patológico, de cada uno de los tejidos en nuestro cuerpo. De una forma muy gráfica se suele decir que lo llevamos todo escrito en nuestra sangre.

Los trabajos por los que se pone en marcha el *Human Brain Proteome Project* (HBPP) los iniciaron Meyer y Klose (19) con la intención de analizar el proteoma del cerebro, tanto en personas sanas como con las que sufren enfermedades neurológicas. También pretenden hacer un seguimiento de los cambios que puedan producirse durante el envejecimiento, con la esperanza de encontrar proteínas marcadoras, que puedan estar presentes con anterioridad a que se pongan de manifiesto los primeros síntomas de cualquier proceso neurológico.

La primera preocupación ha sido la de establecer los protocolos a seguir, en cada caso, para el análisis cuantitativo de las proteínas de aquellas regiones cerebrales que degeneran en enfermedades como el Parkinson y el Alzheimer. Igualmente estudiarán la presencia de proteínas de procedencia cerebral en el líquido cefalorraquídeo y en el plasma sanguíneo (www.hbpp.org).

Los trabajos se han iniciado con tejidos cerebrales procedentes de tratamientos quirúrgicos en la epilepsia (a través de Albert Becker, Bonn) o de autopsias (Brain-Net Europe. Hans Kretzsehmar, Munich) investigando la estabilidad de las proteínas en dichos tejidos.

Para Meyer y Klose son unas 12.000 proteínas las que contiene el cerebro humano, de las cuales se obtendrá información clave para establecer el origen y desarrollo de numerosas enfermedades, a la vez que puede acercarnos a cuestiones metafísicas sobre lo que nos hace ser humanos.

Por lo que respecta al *Human Liver Proteome Project* (HLPP) se han incorporado 79 laboratorios, de los que 37 pertenecen a China, país muy sensibilizado por estos estudios, dado que cientos de miles de personas mueren allí cada año como consecuencia de enfermedades de origen hepático. Para el año 2006 los trabajos estarán en pleno desarrollo y los resultados serán tangibles.

Para abordar con seguridad el estudio analítico de las mezclas complejas de proteínas, se dispone de una técnica que viene produciendo excelentes resultados. Se trata de la electroforesis bidimensional sobre geles (2-D electroforesis), según la cual, las proteínas extraídas de la muestra problema se someten a una primera separación, de acuerdo con la técnica de isoelectro-enfoque, en la que a través de la tira existe un gradiente de pH, lo que permitirá la separación de las distintas proteínas en virtud de su punto isoeléctrico. Todo ello a consecuencia de que la proteína se inmovilizará en aquel sector de la tira en el que el pH de dicho sector coincida con el punto isoeléctrico de la misma.

Para hacer la técnica más selectiva, se dispone en la actualidad de tiras expandidas, de forma que en sus 18 cm el gradiente de pH es de solo una unidad (pH 3 a 4; 4 a 5; 5 a 6, etc.) pudiendo operar tanto en pH ácidos como alcalinos.

Para que el desarrollo electroforético se realice en la segunda dirección, se superpone la tira anterior sobre una lámina de gel de poliacrilamida, que contiene dodecil sulfato sódico (PAGE-SDS) al objeto de igualar cargas eléctricas y que la separación de las proteínas se realice en función de su tamaño molecular.

La posterior tinción con colorantes selectivos o fluorescentes, permitirá visualizar las respectivas manchas de las proteínas existentes para ser medidas e incorporar los datos al programa informático correspondiente. Esto es necesario dado que, por ejemplo, de una muestra celular que pueda contener de 100 a 300 μg de proteínas totales se pueden visualizar entre 1000 y 2000 manchas de las diferentes proteínas. Con técnicas especiales en geles con mayor longitud de emigración, las manchas capaces de ser visualizadas pueden llegar hasta las 10.000.

Bio-Rad Laboratories (www.discover.bio-rad.com) suministra un sistema llamado PD Quest, un *software* que permite comparar los resultados de 2D electroforesis geles. Además, el sistema permite diferenciar una mancha proteica de lo que puede ser un simple artefacto. Ello permite la comparación entre muestras de tejidos sanos y aquellos portadores de enfermedades, y su almacenamiento en bases de datos es de gran utilidad a fines comparativos.

La cromatografía líquida es otra de las técnicas utilizadas en la separación y cuantificación de proteínas y en este caso es el relleno de la columna cromatográfica la que condiciona la separación de las proteínas (cambio iónico, fase reversa, afinidad, etc.).

Como en el caso de la electroforesis, se pueden combinar dos tipos de columna, la de cambio iónico y la de fase reversa, lo que permite una mayor resolución de las mezclas de proteínas.

Una vez efectuada la separación por los métodos indicados el paso siguiente es el de la posible identificación, y la técnica de elección es la espectrometría de masas en sus dos versiones de MALDI-TOF (*matrix assisted laser desorption ionization - time of flight*) y SELDI-TOF (*Surface enhance laser desorption ionization - time of flight*). Para el caso de que la separación de las proteínas se haya efectuado por 2D-electroforesis es evidente que las técnicas de tinción deberían ser compatibles para sus análisis por espectrometría de masas.

Una amplia revisión de las técnicas la podemos encontrar en el trabajo de Patton (20). En el mismo se pueden encontrar los métodos de tinción para proteínas totales, y la de sus modificaciones postraduccionales, así como las estrategias para detectar cambios en los perfiles de proteínas, o lo que es lo mismo proteómica diferencial.

Concretamente para el estudio de las modificaciones postraduccionales de las proteínas, Applied Biosystems dispone de un equipo 4000 QTRAP LC/MS/MS, que combina un atrapamiento iónico, que es una forma de cromatografía líquida, y un doble espectrógrafo de masas con tecnología de triple cuadrupolo.

Se espera mucho en el futuro de la proteómica, de las nuevas técnicas analíticas con transportes de cantidades mínimas de fluidos a través de microcanales sobre un *chip(microfluidics)* lo que en la actualidad se denomina “laboratorio sobre un chip”, un dispositivo microfabricado en el que se integra varios procesos de laboratorio.

Su denominación es la de μ -TAS (*micro total analysis systems*) que no es más que la miniaturización de un proceso analítico completo, que en nuestro caso concreto sería, la preparación de la muestra, separación de componentes y detección final, en virtud todo ello de poder integrar varios módulos funcionales en un simple dispositivo.

Es evidente que la proteómica será la más beneficiada con estas técnicas, ya que la cantidad de muestras de proteínas para su análisis es a menudo muy limitada, y por eso requiere poder manejar pequeños volúmenes sin pérdida alguna de los analitos en todo el proceso.

El factor tiempo, que puede ser limitante en determinados tipos de análisis, también juega a favor de estas técnicas y como ejemplo, basta citar que la separación de seis proteínas diferentes, con pesos moleculares entre 9 y 116 kDa, realizada sobre un *chip*, con la técnica de electroforesis capilar en un medio de dodecil sulfato sódico, requirió únicamente 25 segundos. Igualmente la posibilidad de automatización está superada con su robot para el pretratamiento de la muestra y un microdispensador para transferir los productos de la reacción a un espectrómetro de masas, en su versión MALDI-TOF.

El impacto potencial de estos circuitos microfabricados es sustancial, y su futuro es comparable a lo visto con la tecnología de los ordenadores, que del primer supercomputador, el Cray I con menos de 0,2 gigaflops, se ha pasado a los PC de más de 15 gigaflops.

Dado el amplio espectro de pruebas analíticas químicas y bioquímicas, los dispositivos microfabricados se harán tan indispensables como los actuales PC.

Una revisión muy documentada de las aplicaciones de μ -TAS en biotecnología puede verse en lo publicado por Lee SJ y Lee SY (21). Igualmente suministran información los fabricantes de estos equipos: ACLARA Bioscience (www.aclara.com), BioMicro Systemas (www.biomicro.com), Caliper Technologies Corporation (www.calipertech.com), y Cepheid (www.cepheid.com).

Del mayor interés para la industria farmacéutica son los estudios de la proteómica funcional, en los cuales se investiga el papel de las proteínas a nivel celular y su posible asociación con determinadas enfermedades, lo que les convierte en un blanco de posibles fármacos que sean capaces de interferir en su actividad.

De entre las técnicas analíticas relacionadas con dichos estudios podemos destacar a la denominada CALI (*chromophore-assisted laser inactivation*) que se caracteriza por la utilización de un anticuerpo, o un ligando, de la proteína

de estudio, que no presenten acción bloqueante de la actividad fisiológica de la proteína, y que se transforma en un reactivo neutralizante al conjugarlos a una molécula colorante, como puede ser verde malaquita o fluoresceína.

En el momento de efectuar la prueba, el complejo formado por el anticuerpo-proteína o antígeno-proteína, es irradiado con una radiación láser de longitud de onda adecuada. En este momento, las moléculas del colorante acopladas al complejo, generan radicales libres de corta vida media, lo que hará que su efecto quede restringido espacialmente a la proteína de estudio. Si a consecuencia de dicho efecto se producen alteraciones en los aminoácidos que constituyen partes funcionales de la proteína, la citada proteína quedaría inactivada.

La técnica es factible de realizarse en escala macro-CALI o micro-CALI, en este último caso enfocando el haz de radiación láser a través de un microscopio sobre células simples o bien sobre compartimentos sub-celulares.

En el trabajo de Robenwolf y colaboradores (22) puede verse la versatilidad de la técnica para demostrar el papel relevante de determinadas proteínas en procesos patológicos.

Al igual que en un trabajo anterior (2) poníamos de manifiesto los logros de los estudios sobre proteómica en las enfermedades cancerosas, nos referiremos aquí a los relacionados con las enfermedades cardiovasculares.

Vivanco y colaboradores (23) informan sobre la disfunción ventricular, cuyo mecanismo molecular es desconocido, pero resulta lógico pensar que existirán alteraciones significativas en el perfil de expresión génica, y el de las proteínas, en el miocardio, lo que nos permitirá caracterizar dicho proceso, así como su desarrollo y desenlace.

Por lo que se refiere a la miocardiopatía dilatada, como causa más frecuente de trasplante cardíaco, y que se presenta cada año en 5-8 de cada 100.000 personas, se ha asociado a factores diversos, particularmente genéticos. Los estudios proteómicos de biopsias humanas, han puesto de manifiesto con electroforesis en geles 2D, un nivel de expresión menor en 88 proteínas, al compararlas con el perfil de expresión de muestras con cardiopatías isquémicas; proteínas que incluyen a la desmina, ATP sintasa, creatincinasa, cadena ligera 2 de la miosina y varios miembros de la familia de proteínas incluidas en los denominados *heat shock*.

Como perspectiva futura de la proteómica cardiovascular, está la de conocer las proteínas del miocito, y del resto de los tipos celulares de este sistema,

con objeto de identificar su función y entender su papel en los diferentes procesos patológicos.

Del trabajo de Van Eyk (24) también se puede obtener información sobre la variación del proteoma en un conjunto de enfermedades cardíacas. Nos explica cómo, tras un proceso de isquemia coronaria, el restablecimiento del flujo sanguíneo produce un conjunto de daños en el miocardio que dependerá de la severidad del proceso.

Estudios con animales de experimentación han demostrado, que la proteína clave en el proceso de contracción, la troponina I (TnI), sufre unos cambios progresivos y selectivos, de los que hemos denominado postraduccionales (fosforilación, glucosilación, acetilación, etc.) produciendo un espectro de proteínas modificadas, que reflejan directamente la severidad del daño. En un momento dado, y de acuerdo con dicha severidad, estas proteínas se liberarán del miocardio y pasarán a la sangre. Esto hace que la valoración de los niveles de TnI en el suero, constituya un dato fundamental en el diagnóstico del infarto de miocardio.

Según muestra el autor, cuando la enfermedad cardíaca progresa desde una isquemia, infarto agudo del miocardio hasta un fallo cardíaco, el proteoma del miocito cambia. Inmediatamente a la iniciación del proceso, lo que domina son los cambios postraduccionales en el proteoma, cambios que podrán seguirse produciendo en las etapas siguientes. Sin embargo, en estas etapas aparecerán también alteraciones génicas, que añadirán nuevos cambios en el proteoma y que tendrán un papel importante en el desarrollo de la enfermedad crónica. Con la muerte de los miocitos, sus proteínas celulares serán liberadas a la sangre, donde podrán ser utilizadas como marcadores diagnóstico.

Finalmente es de la opinión de que en la próxima década, los conocimientos a nivel molecular de las enfermedades cardíacas, tendrán un desarrollo exponencial. Ello repercutirá en un cambio beneficioso en la práctica de la cardiología, en todos sus aspectos: detección, diagnóstico, intervención y tratamiento, lo que llevará a un pronóstico más favorable de aquellos pacientes con enfermedades agudas o crónicas.

GENÓMICA NUTRICIONAL

El término “nutritional genomics” fue aplicado por Della Penna (25) para definir un campo de estudio en las fronteras de la bioquímica de las plantas, la

genómica y la nutrición humana. Lo que se pretende es tratar de establecer cuáles componentes de los alimentos pueden influir, a nivel molecular, en nuestro desarrollo y en nuestra salud, con especial énfasis en sus mecanismos específicos de acción.

La homeostasis celular está regulada por un balance, estrechamente controlado, entre proliferación, reposo, diferenciación y apoptosis. Cualquier alteración de este equilibrio puede originar cambios fenotípicos profundos, que pueden ir desde la supresión del crecimiento celular a la transformación de células normales en neoplásicas. Por su parte, una desregulación del proceso de la apoptosis puede conducir a estados patológicos diversos: neuro degenerativos, autoinmunes, enfermedades relacionadas con el miocardio, procesos cancerosos, etc.

Como ejemplos típicos de estos procesos, se suele citar a la vitamina A, reiteradamente demostrada su influencia en la diferenciación celular, y lo mismo ocurre con el papel que juegan determinados fitoesteroles, el selenio o las fibras fermentables, en la promoción de la apoptosis de las células intestinales.

Aunque los estudios de la genómica nutricional están aún en su infancia, se pueden disponer ya de datos, según los cuales tanto un exceso de nutrientes como una deficiencia en los mismos, hacen aparecer en los individuos cambios tanto genómicos como proteómicos. En este último caso, independientemente de que la diana molecular del nutriente afecte a la transcripción, translación o a las modificaciones postraduccionales, lo evidente será que se podrá conocer la magnitud de la expresión o el silencio de los genes por efecto del nutriente, a través de las proteínas codificadas por el gen. En definitiva, que nos podemos auxiliar de los datos que proporciona la proteómica, por el estudio de los correspondientes biomarcadores.

Es evidente que para evitar la inconsistencia de los resultados finales, que se han podido ver en los estudios sobre los efectos del α -tocoferol o el β -caroteno en la prevención del cáncer, habrá que tener en cuenta los polimorfismos genéticos de las personas incluidas en la muestra de estudio.

En el trabajo de Milner (26) se pone de manifiesto cómo las tecnologías de genómica y proteómica ofrecen excelentes oportunidades para la identificación de dianas moleculares de los componentes de la dieta, y cómo tras el conocimiento de las correspondientes mecanismos, influir en la calidad de vida.

Igualmente, al hacer un comentario sobre el futuro de la genómica nutricional, considera que si bien el reto para los investigadores en este campo es enorme, la recompensa potencial en términos de morbilidad y mortalidad será también enorme.

MEDICINA GENÓMICA

Cuando nos referimos a la genética, queremos interpretar el estudio de genes simples y sus efectos. Sin embargo, cuando nos estamos refiriendo a la **genómica**, el término acuñado por McKusick en el año 1987 (27) lo que se estudia es la función y las interacciones de todos los genes en el genoma. Ello permite abordar el estudio de las enfermedades más comunes, caracterizadas por las interacciones de múltiples genes, así como dilucidar el papel que están desempeñando los factores ambientales en la aparición y desarrollo de dichas enfermedades, designadas como multifactoriales.

Una manera de adentrarse en el conocimiento y alcance de la medicina genómica, es recurrir a una serie de publicaciones que, con carácter mensual, ha realizado la revista *The New England Journal of Medicine* desde noviembre de 2002 a septiembre de 2003, en todas las cuales se pone de manifiesto la manera en que los conocimientos de genómica pueden conducir a un tratamiento efectivo de los procesos más diversos, con ejemplos bien ilustrativos. Tal es el caso del trabajo de Guttmacher y Collins (28), que citan el historial de una embarazada de 34 años con un episodio de trombosis venosa profunda durante el periodo en que se administraban contraceptivos orales, proceso que también sufrió su madre. Ante la sospecha de una trombofilia hereditaria, una prueba genética demostró que era heterocigótica para una mutación del conocido como factor V Leiden, que incrementa el riesgo de procesos trombóticos. Sobre esta base, y de la posibilidad de trombo-embolismo relacionado con los estrógenos, fue tratada profilácticamente con heparina subcutánea durante el periodo de embarazo. Como resultado, no aparecieron síntomas, y a término, nació un hijo sano.

El trabajo de Burke (29) está dedicado a las pruebas genéticas que pueden proporcionar beneficios clínicos realmente importantes.

La prueba genética se define como el análisis de ADN, RNA, cromosomas, proteínas o determinados metabolitos, con el objeto de detectar genotipos relacionados con enfermedades hereditarias, mutaciones, fenotipos o cariotipos, con fines orientados a la práctica clínica.

Entre los ejemplos que propone se pueden citar el de aquellos jóvenes con múltiples neoplasias endocrinas tipo 2 (MEN-2) que pueden evitar la aparición de carcinoma medular al realizarle una tiroidectomía profiláctica. En este caso la prueba genética identifica una mutación en el oncogene RET.

Otro ejemplo es el de la hemocromatosis, un proceso que origina un exceso de acumulación de hierro, con el resultado de complicaciones tales

como: cirrosis, diabetes, cardiomiopatía y artritis. En este caso son dos mutaciones en el gen HFE (c282y y H63D), y aquí también pueden evitarse las citadas complicaciones con la iniciación temprana de sangrías terapéuticas.

Como conclusiones el autor apunta que las pruebas genéticas ofrecen grandes oportunidades para el diagnóstico de los riesgos de determinadas enfermedades, máxime cuando se mejoren las sensibilidades de las pruebas en un futuro, así como cuando se identifiquen más y más mutaciones. En todo caso siempre se deberían considerar los riesgos y beneficios a la hora de realizar dichas pruebas.

Khoury y McCabe (30) dedican su trabajo al análisis de poblaciones, y consideran que en la próxima década, poblaciones enteras o subgrupos específicos serán investigados, al objeto de obtener informaciones genéticas que permitan actuar sobre pacientes individuales, con el fin de mejorar su salud y prevenir enfermedades.

Se ocupa de los análisis en recién nacidos, y cita el caso de que reduciendo el tiempo en que se diagnostica, por ejemplo de cuatro a dos meses en el caso de la Sicklemlia, es de la mayor importancia para la iniciación de un tratamiento profiláctico con penicilina, y así prevenir la enfermedad y muerte de los afectados.

Cita igualmente el caso de recién nacidos con defectos en la audición, para los que una mutación en el gen para la connexin 26 está presente en el 40% de todos los casos de sordera. No cabe duda que una detección temprana permite la posibilidad de intervenciones más agresivas con el fin de mejorar el aprendizaje del lenguaje y el implante coclear cuando esté indicado.

Dada la posibilidad que nos ofrecen las nuevas técnicas analíticas con espectrometría de masas, para detectar más de 20 tipos diferentes de procesos, que pueden ser tratados convenientemente, nos damos cuenta de los grandes beneficios que, previsiblemente, se podrán obtener en el futuro.

De la mayor importancia es el estudio de portadores de desórdenes genéticos en la población adulta. Cita los casos de la enfermedad de Tay-Sachs, o la fibrosis quística. En esta última, la bibliografía apunta a 900 diferentes mutaciones asociadas a la misma, aunque se recomiende reducir las pruebas genéticas a solo 25 mutaciones.

Se ha comprobado igualmente, que las mutaciones anteriores han sido asociadas con azoospermia en el hombre y con la rinosinusitis crónica.

Tras plantearse los aspectos éticos y legales que puede presentar este estudio de poblaciones, llegan a la conclusión de que debe asegurarse un adecuado coste-beneficio.

Weinshilboum (31) se ocupa de la herencia genética en su relación con la respuesta a los medicamentos. Lynch (32) del cáncer colo-rectal hereditario; Nussbaum y Ellis (33) de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson; Standt (34) del diagnóstico molecular de los cánceres hematológicos; Wooster y Weber (35) del cáncer de mama y de ovario, Nabel (36) de las enfermedades cardiovasculares; Clayton (37) de las implicaciones del orden ético, legal y social que presenta la medicina genómica y finalmente Guttmacher y Collins (38) hacen un resumen de todo lo anterior y apuntan que muchos avances han dejado de ser promesas para convertirse en realidades, citando como ejemplo el rápido descubrimiento del agente responsable del síndrome respiratorio severo (SARS) y otros ejemplos más. Insiste en que en la era de la genómica no sólo intervienen los genes, sino también factores ambientales que determinan los fenotipos. Pone por ejemplo, el de una persona portadora de una mutación en CHE1 que no manifestará ninguna anomalía hasta tanto no se vea expuesta a una anestesia con succinil-colina cloruro, en cuyo momento le aparecerá una apnea prolongada. En casos como el descrito, y puesto que la terapia génica presenta escollos difíciles de salvar, la propuesta será la de modificaciones personalizadas de los factores ambientales responsables, como evitar la anestesia en el caso anterior, o en el caso de los pacientes antes citados con hemocromatosis, restringir en lo posible la ingesta de hierro.

Toca también el problema de las patentes que, al igual de lo ya apuntado anteriormente, puede ser un freno importante para las investigaciones futuras, a la vez que haría prohibitiva la aplicación de los análisis genómicos a la población en general. Un simple cálculo prueba lo anterior si se considera que de los aproximadamente 30.000 genes de nuestro genoma, la mitad de ellos puede tener, por efecto de las patentes, un pago al licenciataro de 1 dólar por gen, ello haría que el análisis de nuestro genoma individual tuviera un gasto inicial, solo por el pago de licencias, de 15000 dólares. Algo debería hacerse para evitar que problemas económicos pongan en peligro el desarrollo de la práctica de la medicina genómica, y restringir a sus justos términos lo que puede ser patentable. Algunas interesantes consideraciones pueden verse en lo publicado en *Nature* (426:10-11; 2003) en donde se cita el dato de que la Compañía Oxford Glyco Sciences, estaba ya tratando de patentar más de 4.000 proteínas relacionadas con diversas enfermedades, con la esperanza de que algunas de ellas se conviertan en blanco para un medicamento, o ella misma resulte un medicamento, como

ya ha sucedido con la eritropoyetina (EPO) que ha proporcionado millones de dólares al laboratorio propietario de su patente.

Esta gran transformación que ya se está produciendo en la medicina genómica, requerirá también una transformación en la educación genética de médicos y farmacéuticos, para la más eficaz actuación conjunta en la prevención de la enfermedad y en la promoción de la salud. Para el caso de los farmacéuticos, apunta Vizirianakis (39) que su educación debe abordar nuevas prioridades para enfrentar eficazmente los retos relacionados con la tecnología genómica. Los responsables de los programas educativos tienen la obligación de decidir, sin demora, en qué extensión, por qué métodos y de qué forma, deberían desarrollarse dichas nuevas orientaciones.

MEDICINA EUGENÉSICA

A la visión optimista de los logros que la medicina genómica proporcionará en la mejora de la salud y prevención de enfermedades, en definitiva en la calidad de vida futura, tenemos la obligación de hacer una llamada de atención para evitar, en la medida de nuestras posibilidades, que por un mal uso de estos conocimientos se transforme por algunos en **medicina eugenésica**. Varios ejemplos demostrativos de lo que apuntamos nos permitirá reflexionar sobre tan importante tema.

Ejemplo nº 1. Nos remontamos a 1991 en el momento que se celebra el éxito del descubrimiento del gen responsable del denominado síndrome del cromosoma X frágil, una enfermedad caracterizada por ciertos criterios clínicos, que no siempre aparecen presentes en su conjunto: retraso mental moderado o grave; estatura normal; circunferencia cefálica normal o excesiva; mandíbula prominente; puente nasal ancho; orejas grandes (mayores de 7 cm). El autismo y el hábito de morderse las manos son rasgos frecuentes, como también lo son el prolapso de la válvula mitral y las articulaciones hiperextensibles.

El diagnóstico genético se realiza en la región q27.3 del cromosoma X (Xq27.3) con el reconocimiento de una mutación consistente en la aparición repetitiva de un trinucleótido CGG (citosina-guanina-guanina) dentro del exón o en las regiones no codificadoras próximas al gen. A efectos diagnóstico se considera intervalo normal el de 6 a 50 repeticiones, y para los afectados de la enfermedad se sitúa entre los 50 y 1500 repeticiones.

Pues bien, por aquellas fechas se estaba gestionando el proyecto del genoma humano y en la revista Science (Vol. 253, pág. 376, 1991) podemos leer lo siguiente:

Watson noted that every year, 2000 boys are born with Fragile X syndrome who will require care for the rest of their lives, at a minimum cost of \$ 100.000 each. That puts the burden of the disease at \$ 200 million a year, he says - and that's just what has been requested for the genome project. "The project will pay for itself if we can go beyond the discovery of this one gene to doing something about it".

De acuerdo con lo anterior queda clara la idea de que el fin que se propone es evitar el coste del tratamiento de los nacidos con el síndrome, y aplicar dicha cantidad en el desarrollo del proyecto del genoma humano.

Pero lo más importante, por su trascendencia, es lo de ir más allá del descubrimiento del gen y hacer algo efectivo que, a mi entender, no quiere decir otra cosa que la de evitar el nacimiento de los afectados, y eso no es más que pura y simplemente recomendar la práctica de la eugenesia.

Ejemplo nº 2. Nos situamos en París, año 1993, en el que la UNESCO celebra los "40 años de genética molecular". Al prestigioso laureado con el Premio Nobel, Prof. Watson, se le hace el honor de clausurar el Congreso, y de cuya intervención podemos tener conocimiento a través de lo publicado en la revista Nature (Vol. 362, pág. 783-784, 1993), que en lo esencial dice:

"We are now, he said, in the sixth fase of genetics, the phase of the human genome sequence, which had succeeded the ages of mendelian genetics, DNA, the genetic code, the control of genes, and recombinant DNA respectively.

*The sixth fase would, he predicted, give way to a seventh age of genetic prediction. This would make possible the routine diagnosis of vast numbers of genetic conditions, wich should **be eliminated where necessary by abortion**: the world must shed the idea that this is evil as it is an act of true moral cowardice to allow children to be born with known genetic defects. Although some of these defects might eventually be treatable by gene therapy, this would never be possible for all of them, and **prevention is in any case better than cure.***

En este caso resulta claro que no se necesita leer entre líneas para interpretar el verdadero significado de las palabras del Prof. Watson, quien defiende la práctica del aborto en aquellos casos en que el análisis genético prenatal, ponga de manifiesto determinados tipos de anomalías.

Cabe pues preguntarse, si esta forma de pensar y actuar, no coinciden plenamente con lo que se entiende por medicina eugenésica y todavía más: cómo

se puede aplicar la conocida sentencia de que **prevenir es mejor que curar** cuando la prevención, en este caso, es pura y simplemente la eliminación de un ser vivo.

Se resiste uno a pensar, que la norma fundamental del **respeto a la vida humana** no sea tenida en cuenta, máxime tratándose de personas que por su prestigio científico, pueden influir negativamente en el comportamiento de otros.

Efectivamente, así puede comprobarse en entrevistas realizadas a personas de relieve, que al ser preguntadas por el tema, responden de manera similar a lo anteriormente expuesto.

Ejemplo nº 3. Es uno, entre tantos otros, que se puede traer a colación, de lo que puede verse en literatura científica en relación con el respeto a la vida humana.

Lo encontramos en el trabajo de Burke ya citado anteriormente (29) en el que puede leerse lo siguiente:

*Genetic testing can also provide diagnostic and pronostic information that aids in difficult clinical decision making. For example, a test for a deletion in the dystrophin gene, the cause of Duchenne's muscular dystrophy, can be used to identify women who are carriers of this condition. A carrier may avoid having an affected child by avoiding pregnancy or by undergoing prenatal testing for Duchenne's muscular dystrophy, **with possible pregnancy termination if the fetus is found to be affected.***

Vemos pues como se aplica la doctrina de que, para evitar el nacimiento de un hijo afectado, en este caso de la enfermedad denominada distrofia muscular tipo Duchenne, lo procedente puede ser un análisis prenatal y posible terminación del embarazo si el feto se encuentra afectado.

En definitiva otro ejemplo más de como la medicina genómica se transforma en medicina eugenésica.

Ejemplo nº 4. En este ejemplo comentamos el trabajo de Yapijakis y colaboradores (40) que nos permite poner de manifiesto la responsabilidad de quienes participan en la ejecución e interpretación de los análisis genéticos.

Presentan el caso de mujeres sanas portadoras de los *citomegalovirus (CMV)* quienes al encontrarse en edad fértil, un embarazo puede presentar serios problemas. Los síntomas de una infección congénita por CMV pueden variar considerablemente de caso a caso, citomegalia con signos de pre-madurez, ictericia

con hepatoesplenomegalia, púrpura trombocitopénica y daños en el sistema nervioso central. En el caso descrito se manifiesta lo siguiente:

*The woman and her husband came to our Center for genetic counseling, after polymerase chain reaction (PCR) testing of amniotic fluid indicated the presence of CMV DNA; **the obstetrician advised termination of the pregnancy.** In order to distinguish between the possibilities of real fetal CMV infection, or of a false positive result due to contamination of the amniotic fluid sample by maternal leucocytes during amniocentesis, we advised an additional immunological and molecular test of the woman's blood sample.*

*These results indicated that there was no recurrence of CMV infection, and the amniotic fluid sample was simply contaminated by maternal blood. **Therefore, the parents were advised to continue the pregnancy, and a healthy baby was born.***

En este caso vemos como ante el resultado de un análisis del líquido amniótico, el ginecólogo recomienda abiertamente que se someta a un aborto, sin asegurarse que la toma de muestra para el análisis, la amniocentesis, se realizó correctamente, y que de ello resultó un falso positivo.

El grupo del Dr. Yapijakis sin embargo, actuó correctamente comprobando los resultados, salvando así la vida de un ser humano totalmente sano.

Ejemplo nº 5. En este ejemplo, nos encontramos con el tema de gran actualidad, como es el de a investigación sobre células troncales y concretamente comentaremos el informe elaborado por el denominado, Comité Asesor de Ética en la Investigación Científica y Técnica, integrado por doce personalidades de reconocido prestigio.

De dicho informe transcribimos su punto 4º que dice:

*La Investigación con células troncales embrionarias humanas sí genera problemas éticos, ya que deben obtenerse a partir de **embriones tempranos.** Este comité conoce dicha problemática, y estima que **el embrión temprano tiene un valor y merece especial respeto, pero que este valor es ponderable con respecto a otros valores.***

Lo primero que llama poderosamente la atención es que, reconociendo el especial respeto que merece el que denominan embrión temprano, se pueda al parecer ser minusvalorado con respecto a otros valores. La pregunta es inmediata ¿Cuáles son esos otros valores que pueden estar por encima del respeto a la vida humana representada por el embrión?

Lo que ocurre es que para justificar ciertas decisiones se comienza por cambiar las denominaciones, y a lo que antes le habían designado como pre-embrión, ahora es embrión temprano, con lo que no alcanzan a su parecer la categoría de persona.

Lo que inquieta es que, de los doce miembros de la Comisión Asesora de Ética, sólo uno de ellos, la Dra. Mónica López Barahona mostraba su disconformidad con el citado punto 4º, entre otros más.

Ejemplo nº 6. Aquí también nos encontramos con los informes de un Comité de Ética, o de una Unidad de Bioética de Centros o Instituciones Sanitarias, en relación con la “fertilización in vitro de los óvulos de la madre, el diagnóstico genético preimplantacional de los embriones resultantes y la selección, con posterior implantación de aquellos que, siendo del sexo femenino, sean HLA compatibles con el paciente.

En las consideraciones previas al informe final, se apunta lo siguiente:

*Desde el punto de vista ético el Comité entiende que **nada impide**, sino más bien al contrario, que una pareja y el sistema sanitario procuren que, de entre los posibles **embriones implantables** (y nos preocupa tanto el número de los necesarios para conseguir el deseado como qué va a ser de los no deseados) se seleccione aquel o aquellos que cuentan con mayores probabilidades objetivas de tener una vida de mayor calidad y dignidad, también objetivamente contempladas.*

Tras esta y otras consideraciones, el informe final es favorable a la utilización de la técnica, en el caso concreto estudiado. Llama la atención esta conclusión, cuando el Comité expresa claramente su preocupación por el destino final de los embriones no deseados, probablemente es que no han dejado de pensar que la práctica en sí, no es más que un acto que encaja, perfectamente, en lo que se entiende por medicina eugenésica.

En otro informe relativo igualmente a “la solicitud de realización de una fecundación in vitro mediante selección de embriones con determinada carga genética”, se trata de demostrar que, legalmente, el proceso es realizable y por tanto el informe es favorable.

Llama la atención un punto de las conclusiones del informe que dice:

*Sin perjuicio de la defensa de la vida humana desde el instante mismo de su concepción, el Derecho puede matizar su valoración jurídica sobre cada una de las fases o etapas de la vida prenatal, materializándose **en una protección jurídica de diferente intensidad** para cada una de ellas, en atención a la culminación de esas etapas.*

De este punto cuesta entender el reconocimiento de la vida humana desde el instante mismo de su concepción con una protección jurídica de diferente intensidad para cada una de las fases o etapas de la vida prenatal.

La impresión que se saca es que, a través de esa diferente protección jurídica, lo que se está solicitando es que por los legisladores se haga legal determinadas actuaciones sobre el embrión y el feto, con la carga eugenésica que de ello pueda derivarse.

Muchos más ejemplos se podrían traer a colación demostrativos de esa preocupación existente sobre el mal uso de la medicina genómica, y como última reflexión manifestar el vivo deseo de que, ante estas realidades, los legisladores, con sus actuaciones, permitan el amparo total para aquellos sanitarios en general, que en el ejercicio de su profesión, se vean forzados a ejercer su derecho a la objeción de conciencia.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) NOONAN A.S.- (2002) Key roles of government in genomics and proteomics: A public health perspective.- *Genet Med.*, 4 (suplemento 6), 725-765.
- (2) ORTEGA, M. (2003).- Farmacogenética, Farmacogenómica y Proteómica en la medicina personalizada. Real Academia Nacional de Farmacia. www.raf.es. Monografía XV: 167-197.
- (3) POLYAK K., RIGGINS G.J. (2001) Gene discovery using the serial analysis of gene expression technique: implications for cancer research. *J. Clin. Oncol.* 19; 2948-2958.
- (4) YE S.Q., USHER D.C., ZHANG L.Q. (2002) Gene expression profiling of human diseases by serial analysis of gene expression.- *J. Biomed. Sci.*, 9; 384-394.
- (5) AFFYMETRIX INC. DNA microarrays, based on the principles of semiconductor technology. www.affymetrix.com .
- (6) PROGEMA CORPORATION DNA microarrays. www.promea.com .
- (7) NEVINS JR, HUANG ES, DRESSMAN H, PITTMAN J, HUANG AT, WEST M. (2003) Towards integrated clinico-genomic models for personalized medicine: combining gene expression signatures and clinical factors in breast cancer outcomes prediction. *Hum. Mol. Genet.* 12; 153-157.
- (8) MOLITOR R, STURN A, MAURER M, TRAJANOSKI Z. (2003) New trends in bioinformatics: from genome sequence to personalized medicine". *Experimental Gerontology*, 38; 1031-1036.

- (9) SHACKEL NA, McGUINNES PH, ABBOTT CA, GORRELL MD, McCAUGHAN GW. (2002). Insights into the pathobiology of hepatitis C virus associated cirrhosis: analysis of intrahepatic differential gene expression. *Am. J. Pathol.*, 160: 641-654.
- (10) SHACKEL NA, McGUINNESS PH, ABBOTT CA, GORRELL MD, McCAUGHAN GW. (2001) Identification of novel molecules and pathogenic pathways in primary biliary cirrhosis: cDNA array analysis of intrahepatic differential gene expression. *Gut*, 49: 565-576.
- (11) PATINO WD, MIAN OY, SHIZUKUDA Y, HWANG PM. (2003) Current and Future Applications of SAGE to Cardiovascular Medicine. *Trends Cardiovasc Med*. 13: 163-168.
- (12) GNATENKO DV, DUNN JJ, McCORKLE SR. (2003) Transcript profiling of human platelets using microarray and serial analysis of gene expression. *Blood* 101: 2285-2293.
- (13) POMEROY SL, TAMAYO P, GAASENBEEK M. (2002) Prediction of central nervous system embryonal tumour outcome based on gene expression. *Nature* 415: 436-442.
- (14) BEER DG, KARDIA SL, HUANG CC. (2002) Gene expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. *Nat. Med.* 8: 816-824.
- (15) Lu YJ, Hing S, Williams R. (2002) Chromosome 1q expression profiling and relapse in Wilms' tumour. *Lancet* 360: 385-386.
- (16) HOFMANN WK, DE VOS S, ELASHOFF D, GSCHALDMELER H, HOELZER D, KOEFFER HP, OTTMAN OG. (2002) Relation between resistance of Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia to the tyrosine kinase inhibitor STI 571 and gene-expression profiles: a gene-expression study. *Lancet* 359: 481-486.
- (17) SERVICE R.F.(2003) Public Projects Gear Up to Chart the Protein Landscape. *Science*, 302: 1316-1318.
- (18) LIOTTA L:A., FERRARI M., PETRICOIN E. (2003) Written in blood. *Nature* 425: 905.
- (19) MEYER HE, KLOSE J, HAMACHER M. (2003) HBPP and the pursuit of standardisation. *Lancet Neurology* 2: 657-658.
- (20) PATTON WF. (2002) Detection technologies in proteome analysis. *Journal of Chromatography B*, 771: 3-31.
- (21) Lee SJ, Lee SY. (2004) Micro total analysis system (μ -TAS) in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Published online. 9 January.

- (22) ROBENWOLF S, NEIWÖHNER J, MEYER E, PETIT-FRÈRE C, Y OTROS. (2002) Functional proteomics using chromophore-assisted laser inactivation. *Proteomics*, 2: 241-246.
- (23) VIVANCO F, LÓPEZ-BESCÓS L, TUÑÓN J, EGIDO J. (2003) Proteómica y enfermedad cardiovascular. *Rev. Esp. Cardiol.*, 56(3): 289-302.
- (24) VAN EYK JE.(2001) Proteomics: Unraveling the complexity of heart disease and striving to change cardiology. *Current opinion in molecular therapeutics*, 3/6: 546-553.
- (25) DELLA PENNA D.(1999) Nutricional genomics: manipulating plant micronutrients to improve human health. *Science*, 285: 375-379.
- (26) MILNER JA. (2002) Functional foods and health: a US perspective. *British Journal of Nutrition*, 88, suppl. 2: S151-S158.
- (27) McKUSICK VA, RUDDLE FH. (1987) A new discipline, a new name, a new journal. *Genomics* 1: 1-2.
- (28) GUTTMACHER AE, COLLINS FS. (2002) Genomic Medicine. A primer. *N. Engl. J. Med.* 347: 1512-1520.
- (29) BURKE W. (2002) Genomic Medicine: Genetic Testing. *N. Engl. J. Med.* 347(23): 1867-1875.
- (30) KHOURY MJ, McCABE LL, McCABE ERB. (2003) Genomic Medicine: Population Screening in the Age of Genomic Medicine. *N. Engl. J. Med.* 348(1): 50-58.
- (31) WEINSHILBOUM R.(2003) Inheritance and drug response. *N. Engl. J. Med.* 348: 529-537.
- (32) LYNCH HT, DE LA CHAPELLE A. (2003) Hereditary colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 348: 919-932.
- (33) NUSSBAUM RL, ELLIS CE.(2003) Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *N. Engl. J. Med.* 348: 1356-1364.
- (34) STANDT LM.(2003) Molecular diagnosis of the hematologic cancers. *N. Engl. J. Med.* 348: 1777-1785.
- (35) WOOSTER R, WEBER BL. (2003) Breast and ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.* 348: 2339-2347.
- (36) NABEL EG.(2003) Cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.* 349: 60-72.
- (37) CLAYTON EW. (2003) Ethical, legal and social implications of genomic medicine. *N. Engl. J. Med.* 349: 562-569.

- (38) GUTTMACHER AE, COLLINS FS. (2003) Welcome to the Genomic Era. *N. Engl. J. Med.* 349(10): 996-998.
- (39) VIZIRIANAKIS IS. (2002) Pharmaceutical education in the wake of genomic technologies for drug development and personalized medicine. *Eur. J. Pharm. Sci.* 15:243-250.
- (40) YAPIJAKIS C, SEREFOGLOU Z, SAKELARIOU M, KARAHALIOS S, KOU-FALIOTIS N. (2002) Application of prenatal testing for cytomegalovirus an illustrative case report. *Balkan Journal of Medical Genetics.* 5: 67-72.