





**INSTITUTO DE ESPAÑA  
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA**

**LA GENÉTICA HUMANA, MÉDICA Y CLÍNICA  
EN LA MEDICINA: DESDE LA EUGENESIA  
A LA MEDICINA PREDICTIVA**

**DISCURSO**

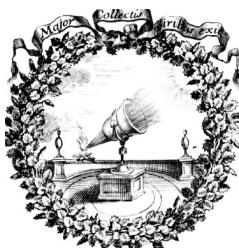
para la recepción pública del Académico Electo

**EXCMO. SR. D. JOSÉ MIGUEL GARCÍA SAGREDO**

leído el día 23 de noviembre de 2010

y contestación del Académico de Número

**EXCMO. SR. D. ANTONIO CAMPOS MUÑOZ**



MADRID, 2010

Depósito Legal: M. 44.811 - 2010

---

Fotocomposición e impresión: IMPRENTA TARAVILLA, S.L.  
Mesón de Paños, 6. 28013 Madrid

# SUMARIO

	<u>Págs.</u>
SALUTACIÓN Y AGRADECIMIENTOS .....	9
GENÉTICA MÉDICA .....	16
INICIOS .....	18
<b>Los pioneros incomprensidos (Hunt, Morgan, Boveri) .....</b>	<b>18</b>
<b>Eugenesia .....</b>	<b>22</b>
FUNDACIÓN .....	27
<b>El número cromosómico: Tjio, Lejeune, Ford, Jacobs, Nowell, y otros muchos .....</b>	<b>27</b>
<i>Nacimiento de la citogenética humana .....</i>	<i>27</i>
<i>Nomenclatura .....</i>	<i>36</i>
<i>Refinamiento de las técnicas citogenéticas, técnicas de bandeo ....</i>	<i>37</i>
<b>La genética en los hospitales .....</b>	<b>38</b>
<i>La epidemiología de las enfermedades genéticas .....</i>	<i>39</i>
<i>Citogenética .....</i>	<i>39</i>
<i>Genética clínica .....</i>	<i>41</i>
<i>Diagnóstico prenatal .....</i>	<i>43</i>
<b>Diagnóstico clínico .....</b>	<b>43</b>
<i>Dismorfología .....</i>	<i>48</i>
<b>Marcadores (dermatoglifos) .....</b>	<b>50</b>
<b>Bioquímica .....</b>	<b>52</b>
<b>Diagnóstico prenatal .....</b>	<b>52</b>
DESARROLLO .....	54
<b>De los catálogos a las bases de datos .....</b>	<b>54</b>
<i>Anatomía mórbida del genoma humano .....</i>	<i>55</i>
<i>Catálogos de anomalías cromosómicas .....</i>	<i>57</i>
<b>Citogenética avanzada .....</b>	<b>58</b>
<i>Citogenética oncológica .....</i>	<i>60</i>

	<u>Págs.</u>
<i>Mutagénesis ambiental</i> .....	61
<i>Dosimetría biológica</i> .....	65
<i>Automatización</i> .....	66
<i>Células germinales</i> .....	68
<b>Consolidación clínica</b> .....	69
<b>Consejo genético</b> .....	71
<b>Nosología y taxonomía genéticas</b> .....	73
EXPLOSIÓN .....	74
<b>La etapa molecular</b> .....	74
<i>Proyecto genoma</i> .....	74
<i>Diagnóstico génico</i> .....	77
<b>El ave fénix: ocaso de la citogenética y resurgimiento de la citogenética molecular</b> .....	78
<i>FISH</i> .....	78
<i>Pintado cromosómico</i> .....	80
<i>FISH en mutagénesis ambiental</i> .....	81
<i>Interfase</i> .....	83
<i>Territorios cromosómicos</i> .....	84
<i>Telómeros</i> .....	85
<i>Oncocitogenética molecular</i> .....	87
<i>CGH</i> .....	89
<i>Microarrays</i> .....	90
<i>Micronúcleos y biomarcadores de mutagenicidad</i> .....	93
<i>Test de estrés citogenético</i> .....	97
<b>La caída de las reglas de oro</b> .....	98
<i>Disomía uniparental</i> .....	99
<i>Imprinting</i> .....	100
<i>Epigenética</i> .....	102
<i>CNVs</i> .....	105
<b>La genética de las enfermedades complejas</b> .....	108
<i>Diagnóstico molecular de las enfermedades multifactoriales</i> ....	108
<i>Enfermedades oligogénicas</i> .....	111
<i>Diagnóstico de enfermedades de comienzo tardío. Anticipación</i> ...	112
<b>Medicina predictiva</b> .....	115
<i>Oncogenética</i> .....	115
<i>Biomarcadores</i> .....	119
<b>Herramientas moleculares</b> .....	120
<i>Farmacogenética y farmacogenómica</i> .....	123
SIGLO XXI: TRANSVERSALIDAD Y FUTURO .....	124
<b>Genética personalizada: hacia una medicina preventiva</b> .....	125

	<u>Págs.</u>
<b>La era postgenómica</b> .....	127
<i>La Genética y la Medicina en la era postgenómica</i> .....	128
<i>Polimorfismos (SNPs), Proyecto HapMap</i> .....	130
<i>ENCODE</i> .....	131
<i>DECIPHER</i> .....	132
<i>GWAS</i> .....	133
<b>Genómica masiva</b> .....	134
<b>Nuevos procedimientos diagnósticos</b> .....	137
<i>Diagnóstico prenatal y de preimplantación</i> .....	138
<b>Nueva eugenesia</b> .....	141
<b>La genética en la sociedad del siglo XXI: Nuevos retos</b> .....	145
<i>Ética</i> .....	145
<i>Medicina preventiva</i> .....	146
<i>Biobancos</i> .....	146
<i>Discriminación</i> .....	147
<i>Patentes</i> .....	148
<i>Impacto en la prensa</i> .....	148
<i>Futuro del consejo genético</i> .....	150
<b>Medicina personalizada</b> .....	151
<i>Genómica de una sola molécula</i> .....	153
<i>Impacto social. Consumer genetics</i> .....	154
<b>Papel del médico genetista: traslacional – sostenible – gestor – psicólogo – consejero clínico</b> .....	159
EPÍLOGO: <i>ESPAÑA</i> .....	163
TRES NOTAS FINALES .....	165
BIBLIOGRAFÍA .....	166
<b>CONTESTACIÓN POR EL EXCMO. SR. D. ANTONIO CAMPOS MUÑOZ</b> .....	187



## **SALUTACION Y AGRADECIMIENTOS**

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia Nacional de Medicina  
Excmo. Sr. Secretario General  
Excmos. Miembros de la Junta Directiva  
Excmos. Señora y Señores Académicos  
Señoras y Señores:

Puedo decir sin temor a equivocarme que hoy es uno de los pocos días que marcan a una persona para el resto de su vida. No solo es un gran honor estar en esta tribuna pronunciado el discurso de ingreso como Académico de Número, sino que aún es más el honor de estar rodeado por todos los académicos quienes representan el conocimiento científico, el buen hacer, la excelencia profesional y el afán por seguir mejorando la ciencia médica y la sociedad en la que estamos inmersos.

En este momento en el que inicio mi andadura en la Real Academia Nacional de Medicina siento el peso abrumador de todo lo que representan los académicos de esta noble institución y me hacen sentir casi insignificante pero con una gran ilusión de que se me permita contribuir con mi modesta aportación a la grandiosa labor de esta Real Academia, sin olvidar el orgullo inmenso de entrar hoy en ella.

En este momento y desde esta tribuna, siento el peso de los 276 años de historia de esta institución que hoy me acoge, siento el peso de todos sus miembros que desde el inicio en la Tertulia Médica Matritense son el elenco de la Medicina española, hombres ilustres que impulsaron la docencia, la investigación y la excelencia profesional de la medicina en España.

En primer lugar quiero dar las gracias a la Sección I Fundamentales de la Real Academia por haber propuesto un sillón de Genética Humana, signo de la evolución de esta Real Academia. Espero con mi trabajo y futuras aportaciones no defraudarles.

En segundo lugar mi inmensa gratitud a los tres Académicos que confiando en mí, presentaron y avalaron mi candidatura: los profesores Emilio Gómez de la Concha, Antonio Campos Muñoz y Manuel Serrano Ríos. Mi gratitud, también, a todos y cada uno de los Académicos que con su apoyo y cariñosa acogida han permitido que esté aquí.

Mi especial agradecimiento al profesor Antonio Campos Muñoz que gustosamente ha aceptado contestar mi discurso de ingreso en esta institución.

Por último mi agradecimiento a los colegas y amigos que con su presencia realzan un acto solemne de la Real Academia Nacional de Medicina.

Repasar los nombres de los académicos es como volver a la Facultad de Medicina ya que aquí están o han estado mis maestros. Permítanme que cite los nombres de los que no solo fueron mis profesores sino que dejaron una huella profunda en mi personalidad: Valentín Matilla y Gómez, Manuel Bermejillo y Martínez, Benigno Lorenzo-Velázquez, José Gay Prieto, Pedro Laín Entralgo, Carlos Gil y Gil, José Botella Llusía, Ciriaco Laguna Serrano, Juan José López Ibor, Rafael Vara López, Gonzalo Piédrola Gil, Agustín Bullón Ramírez, José Pérez Llorca, Francisco Orts Llorca, Antonio Gallego Fernández, Arturo Fernández-Cruz Liñán, Vicente Gilsanz García, Bonifacio Piga Sánchez-Morate, Jorge Tamarit Torres, Rosendo Poch Viñals, Juan Jiménez Collado y Manuel Escudero Fernández.

De otros académicos no tuve la fortuna de ser su alumno pero sí formaron parte del tribunal de mi Tesis Doctoral: Pedro Sánchez García y Julián Sanz Esponera.

Ni en mis mejores y fantásticos sueños habría imaginado estar aquí hoy pronunciando mi discurso de ingreso para ocupar el sillón número 29 dedicado a la Genética Humana que no solo es mi especialidad sino mi gran pasión. Por lo tanto permítanme que con gran humildad pero con pasión exponga mis sentimientos.

Parafraseando a Juan Ramón Jiménez cuando le fue ofrecido un sillón en la Real Academia Española «Las Academias son, o deben ser, institutos de trabajo, no galardones» y así me lo tomo, más como una invitación al trabajo que un galardón.

En la vida no hay casualidades y, probablemente, tampoco existe la suerte, los acontecimientos ocurren de forma sobrevenida, pero lo importante es saber obtener los frutos o saber sacar las ventajas de cualquier circunstancia que pueda suceder. Esto es lo que me ha pasado a lo largo de toda la vida, he sabido o he creído saber tomar decisiones que, aún siendo equivocadas, las llevé hasta sus últimas consecuencias asumiendo toda la responsabilidad. Cuando en 1971 tome la decisión de especializarme en genética parecía una decisión arriesgada en ese momento, pero esta decisión, entre otras cosas notables, me ha permitido llegar hasta aquí, me ha permitido estar pronunciado este discurso de ingreso para ocupar el primer sillón dedicado a la Genética Humana.

Siguiendo con las decisiones que se toman al principio de la vida, cuando yo tomé la decisión de no hacer las milicias universitarias con el fin de aprovechar los veranos dado que iba aprobando año tras año todas las asignaturas en la convocatoria de junio, me permitió estar tres veranos como alumno en el Instituto de Estudios Sociales de la Universidad de Sevilla que dirigía D. Francisco Apellániz en el Puerto de Santa María y también un año en la Universidad Internacional Menéndez Pelayo en el palacio de la Magdalena de Santander, de forma que a la vez que me formaba como médico iba formándome como humanista. Esta decisión me obligó a hacer el servicio militar como soldado al finalizar la carrera de Medicina, la hice en Valladolid y ahí ocurrieron dos cosas importantes en mi vida. Una desde el punto de vista profesional, ya que en el Hospital Militar de Valladolid aprendí a diagnosticar con muy pocos medios técnicos casi exclusivamente utilizando los conocimientos que me habían transmitido mis profesores en la facultad. La segunda es que ahí conocí a Isabel, mi esposa. Isabel que continuamente me ha apoyado y estimulado de forma que he podido llegar hasta aquí porque ha sabido crear la atmósfera adecuada para compatibilizar la vida científica y familiar, igual que fue el sustento familiar cuando yo era becario y la beca no era suficiente para mantenerse y gracias a su trabajo podíamos sobrevivir. El fruto de esa unión han sido dos maravillosos hijos, Pedro y Carlos, quienes rápidamente entendieron la importancia de la biología y de las ciencias positivas, mis dos grandes pasiones científicas, por lo que ambos combinaron los dos campos y en vez de seguir los pasos de la Medicina, son Ingenieros Agrónomos. Me siento orgulloso de ellos.

Otra decisión tomada, casi serendípica, en aquel intervalo del

servicio militar al final de la carrera de Medicina y cuyas consecuencias sigo viviendo, fue cambiar mi preferencia de especialización. Pensaba iniciar la especialidad de Endocrinología, cuando casualmente descubrí la existencia de una residencia de Genética Humana en la Fundación Jiménez Díaz. Tardé muy pocas horas en decirme y menos en ser aceptado.

La vida personal y científica no solo viene definida por las decisiones propias sino también por las amistades, que no necesariamente han de venir de la misma profesión. Quiero resaltar el contacto que he tenido con tres ingenieros de telecomunicación, uno de ellos es Carlos Hernández, compañero en el colegio mayor y posteriormente cuñado, con el que he mantenido grandes y profundas conversaciones sobre la ciencia, la medicina y el rigor científico de los médicos en los largos veranos por tierras de Sayago. Otro ingeniero de telecomunicación, José Luis Monteagudo, fue mi introductor en los proyectos europeos desde el primer día en el que España entró en la Unión Europea, trabajaba en el Departamento de Investigación de mi hospital, el Hospital Ramón y Cajal y con él inicié los estudios sobre mutagénesis y carcinogénesis de los campos electromagnéticos. En ese mismo departamento de investigación había otro ingeniero Francisco del Pozo, ahora catedrático de Bioingeniería y Telemedicina en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación con el que he tenido varios e importantes proyectos de investigación, amén de una aventura dirigiendo la revista *International Telemedicine*.

Tras manifestar que mi vida es la vida de un hijo de maestro, es este el momento en que quiero dedicar mi recuerdo y homenaje a mis maestros a los que debo lo que soy.

Primero mi padre, Ovidio García Bernal. Mi padre era Maestro Nacional por pueblos de Castilla. Cuando hice el examen de ingreso de bachillerato, mi padre decidió que el bachillerato lo haría «por libre», él sería mi profesor y yo estudiaría en casa. Es aquí donde mi madre, Venancia Sagredo, entra en juego, como buena esposa de Maestro Nacional cuidaba de la familia y del entorno cultural, de esta forma, mi padre me daba clases de bachillerato y mi madre creaba la atmósfera adecuada en casa para que pudiera estudiar animadamente y sin sentir la soledad del estudiante único. A partir de cuarto nos trasladamos a Peñafiel ya que mi padre decidió que ya no era capaz de ser mi profesor global. En realidad mi infancia ha sido un recorrido de diferentes pueblos de Castilla siempre ele-

gidos por mi padre para que el lugar fuera el adecuado para la formación de sus hijos. En Peñafiel había un «colegio autorizado», un híbrido entre la enseñanza libre y el instituto. Aquí quiero recordar a otro maestro, Teófilo Reyes, buen profesor de física y química durante mi bachillerato superior, que además era enólogo de una bodega muy conocida de la Ribera del Duero. Hoy un vino hecho por sus descendientes lleva su nombre. Recuerdo a D. Teófilo Reyes porque me enseñó de una forma clara los principios de la física y de la química que tanto me sirvieron en el estudio posterior de la Medicina. Después he de hacer mención al Instituto de Segovia, donde estudié el curso preuniversitario, último periplo de la itinerancia educativa antes de recalar en Madrid. Allí el profesor de matemáticas D. Fernando Hernández Aina fue quien me inició en los secretos profundos del lenguaje matemático, quien me hizo deleitarme con la matemática e incluso dudar qué carrera universitaria iniciaría, Medicina o Ciencias Exactas.

Por fin, mis maestros en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. Si bien la mayoría de profesores consiguieron dejarme una impronta, quiero recordar especialmente a cinco profesores: Fernando de Castro, Francisco Orts Llorca, Jorge Tamarit, Antonio Gallego y Benigno Lorenzo-Velázquez. Los cinco eran profesores de básicas, buenos profesores y exigentes. Decían que sus asignaturas eran muy importantes y les creí, tan importantes eran y tan fundamental entenderlas y aprenderlas bien, como creo que hice, que me permitió estudiar poco en los tres cursos clínicos, ya que bastaba recordar y deducir para dar como sabida la mitad de cada asignatura clínica. Este ahorro de tiempo en el estudio me permitió de forma holgada dedicar mi tiempo a la práctica clínica como alumno interno primero en la cátedra del profesor Bermejillo y después en la del profesor Gilsanz.

Pero la carrera de Medicina no finaliza al salir de la facultad con el título. Llega el momento de la especialización, que es el momento de recordar a mi maestro por excelencia, Andrés Sánchez Cascos. Tuve la suerte de que Andrés, cardiólogo y genetista en la Fundación Jiménez Díaz, fuera mi maestro y la desgracia de ver como fallecía prematuramente. Andrés Sánchez Cascos fue pionero en muchos aspectos, fue uno de los dos iniciadores de la Genética Médica en España, implantó la especialización en Genética Médica por el sistema de médico residente antes de que se generalizara y para mí, fue el que me enseñó el método científico, cómo investigar, cómo

obtener datos publicables incluso de los fracasos, cómo escribir un artículo y, como no podía ser de otra forma, fue el director de mi tesis doctoral.

Cuando salí de mi casa madre, la Fundación Jiménez Díaz, para desarrollar mi vida profesional y científica en el Hospital Universitario Ramón y Cajal, tuve la suerte de tener como Jefe del Servicio de Genética Médica a Carlos San Román Cos-Gayón. Quiero reconocer y agradecer públicamente la labor de Carlos en ese Servicio del que ahora soy responsable. Carlos San Román, como discípulo de Andrés Sánchez Cascos no solo continuó su labor, sino que tuvo una gran virtud, estimular y dejar libertad para hacer. Esto significó para mí la libertad para diseñar mi quehacer clínico pero, sobre todo, la de diseñar mi actividad científica. Pero esta libertad de acción no habría sido posible sin la libertad de tiempo. El tiempo necesario lo obtuve gracias a la labor abnegada de mis compañeros del Servicio de Genética que me concedieron ese tiempo extra con su trabajo: María Teresa Sordo, María Teresa Ferro, Pilar Ferrando y Alicia Quintana.

Dentro de la actividad científica y académica quiero mencionar aquí mi integración en proyectos europeos que me han permitido asomarme a la ventana de la ciencia para asistir en primera fila a lo nuevo, evaluar sus posibilidades y aplicaciones. Estos procesos de inmersión y traslación de la ciencia son los que me han permitido ser un privilegiado a la hora de conocer y hacer amigos entre los personajes más destacados de la genética mundial. Quiero recordar aquí a algunos que además de amigos y colaboradores han contribuido a la construcción de la Genética Médica: algunos ya fallecidos como Paul Malet, Claes Lundsten, Marina Seabright, Marco Fraccaro, Jose Egozcue y Jose María Cantú, otros vivos como Felix Mitelman, Malcon Ferguson-Smith, Herman van den Berghe, Kamlesh Madam, Jean Paul Bureau, Albert Schinzel, Erik Engels, Thomas Cremer, Konstantin Miller, Elisabeth Blennow, Lidia Larizza y tantos otros.

Por el contrario, mi actividad académica ha discurrido por derroteros menos convencionales. El hecho de que la Genética como área de conocimiento no haya estado radicada en las Facultades de Medicina ha sido una cortapisa para la enseñanza de la Genética tanto Médica como Clínica. Esto no ha impedido que lo que inicié hace 17 años dirigiendo una Titulación Propia de Genética Clínica en la Universidad de Alcalá de Henares como paliativo a la falta de ma-

terias genéticas en el currículo médico y a la inexplicable falta de especialidad de Genética Médica en España, se haya convertido en un éxito año tras año permitiéndome crear una escuela de genetista en España.

Antes de empezar con el tema del discurso, quiero recordar aquí a mis inmediatos antecesores en el sillón número 29, sillón de Fisiología General y Bioquímica. Empezaré por Jorge Tamarit que fue mi primer profesor en la Facultad y su asignatura fue la primera clase a la que asistí cuando ingresé en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense. Le recuerdo no solo por ser un excelente profesor sino porque disipó las dudas que tenía entre las ciencias exactas y la medicina ya que combinó perfectamente el conocimiento de la ciencia positiva —matemáticas y sobre todo física— con los principios básicos de la Medicina y la Bioquímica.

Después, Alberto Sols, tan importante en la bioquímica y en lo que hoy conocemos como medicina molecular y sobre todo capaz de crear una escuela de tal forma que sus discípulos han sido y son la base de la genética bioquímica española.

Por último, Antonio Fernández de Molina, eminente neurobiólogo pionero en las manifestaciones eléctricas de las funciones neurológicas. Sin ánimo de establecer paralelismos, Antonio Fernández de Molina tras acabar sus estudios de Medicina se liga al Instituto de Investigaciones Médicas del Prof. D. Carlos Jiménez Díaz donde inicia su carrera como investigador. Su interés le llevó por los caminos de la neurobiología siendo uno de los pioneros en esta materia en España, dirigiendo el Departamento de Biofísica del CSIC con una gran producción científica. Baste recordar aquí los trabajos que destacó el Prof. Reinoso Suárez en el discurso pronunciado en la sesión necrológica de Antonio Fernández de Molina en esta Noble Institución: El estudio de las propiedades electrofisiológicas de la amígdala y sus dianas en hipotálamo, núcleo del lecho de la estría terminal, y sustancia gris periacueductal en mesencéfalo y el papel de la amígdala en el componente emocional de la memoria. El Prof. Antonio Fernández de Molina obtuvo merecidamente en 2002 el Premio Nacional de Investigación Gregorio Marañón, área de Medicina, en reconocimiento por haber dedicado su vida a la investigación científica. Sus aportaciones a la Real Academia fueron muchas y trascendentales. Espero poder desarrollar una labor mínimamente parecida en el sillón que ahora me toca ocupar.

El guarismo 50 me persigue como cifra mágica. En el año 2005,

cuando se cumplían los 50 años del descubrimiento del número cromosómico humano que marca el inicio de la genética médica en los hospitales, tuve el honor de ser el organizador y presidente de la Conferencia Europea de Citogenética que se celebró en Madrid. Poco después, la revista *Biochimica et Biophysica Acta* para su sección *Gene Regulatory Mechanisms* me encarga un artículo de revisión sobre los 50 años de la citogenética y este año, 2010, es el 50 aniversario de la fundación de la Genética Médica como especialidad médica en la mayor parte de los países del mundo desarrollado, y estoy aquí comenzando el discurso de ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina para ocupar un sillón que por primera vez se dedica a la Genética Humana intentando narrar la historia de la Genética Médica en la que España colateralmente está implicada como luego se verá, ya que Tjio estaba trabajando en España. Personalmente he vivido los avatares de la genética humana, médica y clínica y he tenido la oportunidad y el honor de haber conocido a las personas que estaban o están implicadas, incluso algunos se cuentan entre mi círculo de amistades.

Pero nada se podría haber hecho sin los citólogos que allanaron el terreno a principios del siglo XX como Morgan, Boveri o Hunt, todo eso permitió que un hombre que en los años 50 estaba trabajando en Zaragoza, donde llegó huyendo de las consecuencias de la segunda guerra mundial hiciera el descubrimiento del número cromosómico y se iniciara la historia que les voy a resumir no sin dificultades ya que el haberla vivido hace que sea un testigo parcial.

Señor Presidente de la real Academia Nacional de España, el hecho de que haya vivido, no el inicio, pero sí los primeros pasos de la genética médica y, sobre todo, la gran explosión de la Genética Humana como conocimiento, como ciencia aplicada y como especialidad, me permite que dedique mi discurso de ingreso a esbozar la corta historia de la Genética Médica y el papel que ha jugado y jugará en la Medicina.

## **GENÉTICA MÉDICA**

La Genética Médica como especialidad existe desde hace poco más de 50 años, prácticamente coincide con el descubrimiento del número cromosómico humano y el comienzo de la citogenética. En este relato sobre el papel de la Genética en la Medicina voy a con-

siderar todos los aspectos en los que la Genética Médica y sus diferentes áreas de conocimiento han influido en la Medicina, bien de forma aislada como especialidad, bien aportando conocimiento y soluciones en la Medicina en su conjunto y en la Salud en sentido amplio.

En su página web, la biblioteca de la Universidad de Cardiff en el capítulo referente a la «Biblioteca histórica de Genética Humana: Orígenes de una Ciencia del siglo XX», dice «En los últimos 50 años, la Genética Médica se ha convertido en una especialidad médica principal y también, de forma progresiva, ha conseguido formar parte de la medicina en su conjunto. El consejo genético, el diagnóstico y las pruebas basadas en cromosomas y ADN han ayudado a muchos miles de familias, .... Ahora, la primera generación de médicos genetistas se está retirando y la historia de este campo necesita urgentemente conservar sus libros. Cardiff es el foco mundial de estas iniciativas».

Víctor McKusick (1) define la Genética Médica como la ciencia de la variación de la biología humana y su relación con la salud y la enfermedad. A su vez, la Genética Clínica es la parte de la Genética Médica que se preocupa de la salud de los individuos y de sus familias. Alternativamente, continua diciendo, la Genética Clínica se puede definir como la ciencia y la práctica del diagnóstico, prevención y manejo de las enfermedades genéticas.

Si esta corta historia de 50 años puede sorprender por lo logros alcanzados, aun es más sorprendente la historia de la terminología, ya que las palabras «gen» y «genética» se acuñaron hace tan solo 100 años, al inicio del siglo XX. El primero en utilizar la palabra «genética» fue William Bateson, quien en una carta manuscrita sugiere esta palabra nueva para titular una cátedra sobre el «Estudio de la Herencia» (2)

Según McKusick, en 1543 Vesalio publica su anatomía que fue clave en el desarrollo de la medicina moderna y fue la base de la fisiología de Harvey (1628) y de la anatomía mórbida de Morgagni (1761). De forma paralela a la anatomía, el mapeo genético en la segunda mitad del siglo XX fue la base para el estudio de de la función de los genes en todas las enfermedades que luego se ha adoptado por todas las ramas de la medicina para conocer las bases fisiopatológicas de la enfermedad.

McKusick dice que, sorprendentemente, la Genética Médica surge como una especialidad de la medicina clínica impulsada por el co-

nocimiento científico a diferencia de otras especialidades que surgen de una técnica o una tecnología que a posteriori adquieren o se fundamentan en conocimientos científicos básicos.

La fecha en la que se data la piedra fundacional de la Genética Médica (el número cromosómico) es 1956. La ciencia básica previa a 1956, que sirvió como fundamento a la Genética Médica, incluye el mendelismo, la genética bioquímica, la inmunogenética y la genética de poblaciones (1).

## INICIOS

### Los pioneros incomprendidos (Hunt, Morgan, Boveri)

En relación a los conocimientos de genética, se puede uno remontar tanto como quiera, aunque tradicionalmente se puede precisar que el conocimiento científico de la genética comienza con Mendel que presentó los resultados de sus experimentos ante la Sociedad de Historia Natural de Brunn en 1865 y fueron publicados un año después (3); Gregor Mendel fue el introductor de los términos **dominante** y **recesivo**. No obstante Emery y Mueller (4) insinúan que el pionero de la Genética Humana fue Joseph Adams, farmacéutico londinense, quien en 1814 publica el libro Tratado sobre las supuestas propiedades hereditarias de las enfermedades (5), donde distingue entre **trastornos hereditarios** y **trastornos familiares**, los primeros corresponderían a lo que ahora se denominan enfermedades dominantes y los segundos a las enfermedades recesivas —no se debe de confundir con el término hereditario y familiar que se aplica actualmente al cáncer y cuyo significado es distinto—. Pero la Genética Médica como área de conocimiento y especialidad médica tiene poco más de 50 años de existencia.

Peter Harper (2), en su libro «A short history of Medical Genetics» cifra el comienzo del conocimiento de las enfermedades hereditarias en 1645 con la descripción de una familia con un pulgar doble en cinco generaciones que realizó el médico inglés Kenelm Digby (6). Posteriormente, Pierre Louis de Mapertuis, sigue citando Harper, describe en 1753 una familia con polidactilia a lo largo de cuatro generaciones.

Es preciso hacer notar aquí que hay documentos de cómo se distribuía la polidactilia en familias, pero a otro nivel: los pintores y

escultores renacentistas italianos solían acoger bajo su protección económica a familias enteras que les servían como modelo dada la fascinación de muchos artistas por lo extraordinario, es fácilmente comprensible que algunas de estas familias tuvieran características fenotípicas anormales, como es de nuevo la polidactilia, así se pueden observar diversos cuadros de Rafael en los que alguno de los representados tenían polidactilia (7).

Era lógico que las malformaciones que no disminuían la eficacia biológica (la esperanza de vida y reproducción) y tenían una carga hereditaria importante, habitualmente autosómica dominante, se observaran y se reseñaran en el siglo XVIII y, particularmente, en el siglo XIX, en los que la descripción de las enfermedades alcanzó gran importancia. Es por eso por lo que la ceguera hereditaria no fue pasada por alto. Así Martin en 1809 publica una familia de Maryland de origen francés en la que muchos de sus miembros mostraban una ceguera progresiva (8), en su descripción de tres generaciones de la familia hace notar que aquellas personas que no están afectadas no tienen hijos que desarrollen la ceguera.

El conocimiento de los cromosomas es más moderno que el de las enfermedades hereditarias. Walther Flemming, profesor de anatomía en Kiel, en 1882 dibujó cómo veía los cromosomas en células tumorales en mitosis (9). Pero fue Waldeyer en 1888 (10) quien introduce la palabra cromosoma.

Tras varias aproximaciones, en las que tanto Roux, como de Vries y Weissmann aportan conocimientos que apuntan a que los cromosomas contienen elementos concernientes con la herencia y el desarrollo (11), son Walter Sutton (12) en los Estados Unidos y Theodor Boveri (13) en Alemania quienes lanzan la teoría de la herencia cromosómica. Previamente Hugo de Vries (14) en Amsterdam, Carl Correns (15) en Tubinga y Erich von Tschermak (16) en Viena habían redescubierto el mendelismo en 1900, facilitando esa teoría de la herencia cromosómica. Así, Sutton escribe que solo se podría explicar el funcionamiento de los caracteres que describe Mendel y que pasan de una generación a otra, si están en los cromosomas, es más, continúa, la segregación de esos rasgos o caracteres se debe de producir en la meiosis de los cromosomas.

En la primera mitad del siglo XX hubo numerosos estudios para establecer cuál podría ser el número diploide cromosómico de la especie humana. Fue T.S. Painter en 1923 (17) quien estableció el número 48 analizando los cromosomas meióticos de un condena-

do a muerte en Texas, si bien se equivocó en el número, estableció que el sexo masculino tenía la constitución cromosómica XY. Este número se aceptó en toda la comunidad científica, probablemente porque la mayor parte de los estudios cromosómicos los realizaban patólogos en aquellos tejidos en los que era frecuente que hubiese mitosis, los tejidos tumorales. Hoy se sabe que una gran mayoría de las células de tejidos tumorales muestran aneuploidías.

Otras de las áreas de conocimiento que facilitó la fundación de la Genética Médica en 1956 fu la genética cuantitativa. William Bateson (18;19) fue el encargado de encajar los datos y los conocimientos de los biometristas en la visión de la herencia mendeliana. Pearson (20) estudia y describe los rasgos cuantitativos, lo que ahora se conoce como herencia multifactorial. Pero es Fisher quien en 1918 quien reconcilia las teorías de los biometristas y los mendelianos, lo hace mediante una publicación (21), considerada hoy clásica, en la que demuestra que la conducta de múltiples genes mendelianos funcionando a la vez, pueden explicar los hallazgos de los biometristas en lo concerniente a los rasgos cuantitativos. Fisher, entre otras cosas, fue el introductor del término varianza.

Por último, los términos mutación y mutación inducida y su concepto, amplió si cabe aún más el conocimiento de la Genética que posteriormente se convertiría en una disciplina médica. Mutación fue introducido y empleado por primera vez por Wilhelm Weinberg quien en 1912 (22) para explicar la prevalencia del enanismo acondroplásico escribe: «*If a more exact analysis of birth were indeed to confirm a high incidence in last-born children, this would speak for the formation of the initial predisposition for dwarfisms by mutation.*» Poco después, Muller en 1927 (23), describe las mutaciones provocadas por la radiación ionizante en la *Drosophila*, trabajo por el que consigue el premio Nóbel en 1946. Previamente, Thomas Hunt Morgan, primer norteamericano nativo en conseguir el premio Nóbel en 1933, había publicado sus trabajos sobre ligamiento y recombinación (24). En honor de Morgan, la distancia entre genes referente a la recombinación se mide en centimorgans.

El gran desarrollo de la bioquímica a comienzos del siglo XX y, en particular, de la bioquímica genética, sentó otro de los pilares en los que se asentaría la futura especialidad de Genética Médica.

El padre de la bioquímica genética, indudablemente, es Archibald Garrod, que a su vez es el padre del término «errores innatos del metabolismo» (25). Garrod, profesor de medicina en Oxford, comien-

za sus estudios con una enfermedad bien conocida como es la alcaptonuria, tomándola como modelo llega a la conclusión de que es una enfermedad autosómico recesiva ya que la padecen tanto varones como mujeres cuyos padres son normales pero a menudo consanguíneos (26). Posteriormente describió y sirvió para afianzar su teoría de los errores innatos del metabolismo, la pentosuria, el albinismo y la cistinuria.

A pesar de esta teoría de los errores innatos del metabolismo, no es hasta 1952 cuando se descubre el primer enzima cuyo déficit está implicado en una de estas enfermedades metabólicas. Este enzima fue la glucosa-6-fosfatasa, cuyo déficit Cori y Cori (27) lo demostraron en la enfermedad de depósito de glucógeno tipo I. El déficit de la fenilalanina hidroxilasa en la fenilcetonuria fue descrito un año después por Jervis (28).

Otro de los grandes avances en bioquímica genética es el descubrimiento de la estructura de la hemoglobina y su relación con la enfermedad, concretamente con la enfermedad de células falciformes, descrito en 1949 por Linus Pauling e Itano (29). Pauling fue el introductor del concepto «enfermedad molecular» (30).

La inmunología, en la primera mitad del siglo XX, también aportó conocimiento a la futura especialidad de Genética Médica. Su comienzo ha de marcarse con el descubrimiento del sistema ABO de los grupos sanguíneos por Landsteiner en 1901 (31). Más tarde se descubre el sistema MN y es en 1939 cuando Levine y Stetson describen una grave reacción hemolítica tras una transfusión del esposo a una madre de un mortinato (32), lo que facilitó el posterior descubrimiento del sistema Rh (33).

El último pilar básico es la estadística o, mejor, los métodos estadísticos, que facilitaron un gran avance en lo que poco después sería la Genética Médica. Según relata Victor McKusick (1), Godfrey Harold Hardy y Wilhelm Weimberg son los padres de la famosa ley de Hardy-Weimberg que es la piedra angular de la genética de poblaciones. Hardy fue matemático en la universidad de Cambridge y Weimberg médico en Stuttgart. Hardy (34) explica por qué un gen dominante no es más frecuente con el paso de las generaciones. Pero, como cita McKusick, el gran triunvirato de la genética de poblaciones está formado por R.A. Fisher, J.B. Haldane y S. Wright. Sewall Wright acuñó el término «deriva genética», Haldane, entre otras cosas, hizo una cuantificación del ligamiento de dos rasgos humanos como la hemofilia y la ceguera a los colores (35); y Fisher,

con sus conocimientos matemáticos (36), contribuyó a explicar la segregación del sistema Rh. Fisher que fue uno de los entusiastas del movimiento eugenésico en Gran Bretaña, rompió con ellos cuando vio que en dicho movimiento había más propaganda que ciencia (37).

## **Eugenesia**

El conocimiento científico sobre la herencia y los conceptos sobre genética que se iban descubriendo y describiendo al principio del siglo pasado, no podían pasar desapercibidos en la sociedad.

La consciencia de la importancia o del impacto que la herencia podía tener en la sociedad surgió de forma paralela en Gran Bretaña y en los Estados Unidos, en aquella, ligada de alguna forma a la familia de Charles Darwin y en los Estados Unidos a Davenport.

Sir Francis Galton, creador de numerosos conceptos estadísticos, fue el fundador de la eugenesia, el estudio de cómo mejorar la dotación genética de la especie humana.

Galton, primo de Darwin, estudió medicina y matemáticas, perteneció a la Royal Geographical Society, gracias a la cual exploró el oeste y sur de Africa. Una de las materias en las que destacó es en estadística y la posibilidad de medir cualquier cosa, fundamentalmente rasgos y características humanas.

Galton en 1883 acuñó la palabra *eugenics* —eugenesia— para designar la mejora genética de la especie humana, aunque el desarrollo de esta teoría aparece en su famosa publicación *Natural Inheritance* de 1889 (38), Galton pensó que la selección natural podría ser un elemento consciente para mejorar la especie humana. Al ser un experto estadístico creó la biometría, encargada de medir los caracteres humanos que, por otra parte, describió como hereditarios. Galton considera que no solo la talla y el peso son rasgos hereditarios sino que creía que la inteligencia, la música, el liderazgo se heredaban y el ambiente no influía en ellos. En 1905 escribió: «Lo que la naturaleza hace de forma ciega, despacio e implacablemente, el hombre providencialmente lo puede hacer de forma rápida y amable. Como entra dentro de sus capacidades, se convierte en deber el trabajar en esta dirección; igual que existe el deber de socorrer a sus vecinos que padecen un infortunio. La mejora de nuestra raza me parece una de los objetivos más altos que razonablemente se

pueden intentar» (tomado de Mange y Mange) (39). En 1908 Galton organiza la *Eugenics Society of London* para investigar la herencia humana y realizar programas de acción social; dependiendo de esta sociedad, crea el *National Eugenics Laboratory* donde se promociona la recogida de familias que destaquen por sus rasgos tales como «la capacidad artística, el temperamento y la reputación»; propuso que había que fomentar el matrimonio entre los mejores dotados y de esta forma en pocas generaciones se habría mejorado la especie humana. Casi al tiempo, se organizaron sociedades paralelas en Estados Unidos y Alemania de las que se hablará más abajo.

En Estados Unidos el origen de la eugenesia está en la *American Breeder's Association* creada en 1903. Dedicada a la mejora animal, esta asociación propone un comité de eugenesia dedicado a la especie humana. Este comité como dice Cummings, se dedica a «insistir en la valía de la sangre de buena calidad y en la amenaza de la sangre de inferior calidad». El presidente de éste comité fue Charles Davenport.

El padre de la Eugenesia en Estados Unidos es Davenport (40), quien piensa que la forma de mejorar la especie humana es impedir la reproducción de los «insanos», esto es, de los individuos que tienen menos inteligencia, que son delincuentes, que caen en la embriaguez, que son indolentes, en definitiva aquellos individuos que muestran estos rasgos que para él y sus seguidores son claramente hereditarios. Consecuentemente propone que estos seres biológicamente inferiores han de ser esterilizados porque no deberían tener derecho a reproducirse. Este movimiento influyó en la legislación de algunos estados de los Estados Unidos, promulgando leyes que obligaban a la esterilización de los seres «socialmente defectuosos» y también impedían el matrimonio entre estas personas. Este movimiento también llegó a influir en las leyes de inmigración para establecer filtros que impidieran el que llegaran a los Estados Unidos personas con estas características insanas.

Para Davenport los rasgos beneficiosos se encuentran establecidos en la clase media, sobre todo la más culta, la que tiene habilidades artísticas. Davenport pone la diana en el blanco anglosajón, piensa que «llegará un día en el que una mujer podrá elegir a su marido por su historia biológico-genealógica, como hace el ganadero cuando decide quién será el progenitor ideal para su ganadería». Consecuentemente Davenport pone en marcha el *Eugenics Record Office* en Cold Spring Harbor, Nueva York. Aquí se adiestran a los

que van a ser los trabajadores del movimiento eugenésico. Visitan cárceles, asilos y orfanatos y se les enseña a preguntar e indagar para poder detectar familias con individuos enfermos y, sobre todo, a realizar árboles genealógicos donde se marcan a estos individuos. Esta información, los árboles genealógicos, se envían a la central donde se recopila toda la documentación.

Davenport y sus seguidores, piensan que la mayor parte de los rasgos de la personalidad y del comportamiento se heredan y siguen modelos hereditarios mendelianos por lo que, citando a Cummings (41), «la locura, el alcoholismo, la moralidad, la tuberculosis, las preferencias religiosas, la afición por el mar, la viveza de carácter... se consideraban rasgos mendelianos simples, la mayoría recesivos... por lo que se llega a la conclusión de que los pobres, criminales, enfermos, retrasados mentales, o simplemente los fracasados eran portadores de genes que habían predeterminado sus procesos». Es fácil pensar que con estos argumentos se construyeran las leyes que restringían y filtraban la inmigración en los Estados Unidos. Así mismo se pensó que la eugenesia eliminaría los problemas sociales, elevando la calidad biológica de las generaciones futuras.

Tampoco es de extrañar que la sociedad eugenésica se convirtiera en un *lobby* importante que promovía no solo las leyes de inmigración, sino también otras leyes que se dedicaban a regular —prohibir— determinados matrimonios o, incluso, esterilizar a los individuos marcados. En este sentido, la primera ley que regula el matrimonio impidiendo la reproducción de los «defectuosos» se aprobó en Connecticut en 1896. Esta ley prohibía el matrimonio cuando uno de los integrantes era epiléptico, imbecil o débil mental. En 1905 son ya varios los estados que tienen leyes similares, siempre relativas a locos, alcohólicos, epilépticos y retrasados mentales.

Poco después se plantea la posibilidad de esterilizar a los individuos «defectuosos» o «insanos», no todo el mundo estuvo de acuerdo pero una parte de los eugenésicos crearon el *Committee to study and report on the best practical method of cutting off the defective germ-plasm in the American population*. Estos intentan recluir, primero, y esterilizar después, a los individuos genéticamente defectuosos que podían ser hasta el 10 % de la población norteamericana. El mejor argumento acerca de la esterilización es que estos individuos por regla general son altamente prolíficos. La primera ley de esterilización la implanta el estado de Indiana, pero le siguen 15 estados más. Se llegó al esperpento en Missouri donde, citando a Cummings, se

impone la esterilización de los convictos de raptos y atracos, de los ladrones de gallinas y de quienes robaban automóviles. Robinson, medico de Nueva York escribe (42): «Hay ciertos procesos que no pueden estar influidos por el ambiente y es en esos procesos donde el estado tiene el derecho a intervenir y evitar la propagación de la contaminación y la corrupción de la raza... Ninguna casuística, ningún sofisma puede aportar razón alguna contra la esterilización de esos sujetos defectuosos. Es el colmo de la estupidez, en mi opinión, hablar en esos casos de libertad individual, de derechos del individuo. Esos individuos no tienen derechos. No tienen derecho en primer lugar al hecho de nacer, pero una vez que han nacido, no tienen derecho a propagar su estirpe.»

En resumen, había dos formas muy diferentes de ver la eugenesia, por un lado en Gran Bretaña, Galton intenta mejorar la especie humana de forma positiva, facilitando los emparejamientos entre las personas mejor dotadas y, por otro lado, la visión de los Estados Unidos en la que Davenport intenta la mejora impidiendo la descendencia de los individuos peor dotados.

El soporte literario era amplio, así Armstrong en 1927 (44) escribe lo siguiente (tomado de Cummings) (41) «Mediante la beneficencia pública y privada, animamos al débil, al tarado, al tramposo y al fracasado no sólo a continuar en su situación actual, sino a reproducirse libremente... En otras palabras, entregamos deliberadamente las ventajas de la naturaleza destinadas a tener éxito a aquellos cuyas vidas, de una u otra manera, son un fracaso; les capacitamos para que vivan y se reproduzcan con mayor facilidad que al sano, al inteligente y al robusto ... no podría idearse manera alguna más segura de lograr la supervivencia de los inadaptados que coger la adaptación y dársela al inadaptado.»

Lógicamente el movimiento o los clubes eugenésicos no quedaron confinados a los dos grandes países angloparlantes, sino que se extendieron a todo el continente europeo, como Suecia o Alemania.

En Alemania, el movimiento eugenésico tomó el nombre de *Rassenhygiene* en referencia al libro de de Ploetz (45) publicado en 1895. Este movimiento enseguida mezcló los conceptos eugenésicos con otros sobre la mística de la raza, por lo que fue fácil que algunos miembros se asociaran con el emergente movimiento político Nazi, de esta forma, en 1931, dos años antes de que Hitler llegara al poder, la sociedad alemana de higiene racial añadió la palabra eugenesia a su nombre. A los pocos meses de alcanzar el poder el partido

Nazi, en 1933, se promulga una ley que obliga a esterilizar a las personas que tenían defectos tales como ceguera, sordera, epilepsia o retraso mental. Poco después, en 1938, comienza la política de *Gnadentod* o muerte piadosa que permite acabar con los recién nacidos que tenían malformaciones u otros problemas hereditarios. Un año después, el programa denominado T4 se encarga de exterminar a los enfermos mentales ingresados en hospitales psiquiátricos, para continuar con individuos afectados de otras taras (41). Vogel y Motulsky en su libro «Human Genetics: Problems and approaches» (46) escriben que prominentes genetistas humanos en aquel tiempo adoptaron públicamente las teorías nazis poniendo la genética al servicio del estado nazi, estos fueron, entre otros, Fischer, Lenz, Rüdín y von Verschuer. Con ayuda de ellos, se declaró que los judíos tenían material genético «extranjero» y debían ser eliminados de la sociedad alemana (47).

Merece mención aparte el caso de la Unión Soviética. Como en la mayor parte del mundo, la eugenesia se inicia en la Unión Soviética en la década de 1920. Allí se crea una sociedad eugenésica y aparece una revista eugenésica, pero muy pronto chocan estas teorías con la ideología política imperante, el marxismo-leninismo, por lo que a finales de esta década se abandonan las teorías eugenésicas y los científicos que habían dedicado su tiempo a ella, ahora se dedican a la genética vegetal y animal.

No obstante el interés de las aplicaciones médicas de la genética continuó con Levit que era el director de una institución dedicada a la genética médica, el Instituto de Investigación Maximo Gorky de Moscú. Allí estaban interesados por los cromosomas y las enfermedades hereditarias y tenían una plantilla de 200 médicos, cifra que no tenía ningún instituto parecido en el mundo occidental. Paralelamente, en Leningrado Davidenkov crea una clínica de consejo genético en 1929 (2). Cuando Levit desaparece en la década de 1930, la genética se declaró oficialmente una «ciencia Nazi». A partir de ese momento Lysenko fue el que toma la postura oficial y la genética desaparece del mapa soviético (48). Lysenko fue desastroso para el desarrollo de la genética en la Unión Soviética, era un ferviente seguidor de las teorías lamarquianas sobre la herencia de los caracteres adquiridos y dadas sus buenas conexiones con el poder político, fue el encargado de los planes científicos para mejorar la producción de alimentos utilizando las teorías de Lamark. Un ejemplo del lamarquismo es el que expone Harper en su libro (2),

el de la «vernalización» de las semillas, esto es, la exposición al frío de las semillas de trigo nada mas germinar para así acostumbrar la planta a las heladas.

Lysenko cae en desgracia y pierde poder en la década de 1960, pudiendo considerarse este año el del inicio de la genética humana y médica en la Unión Soviética con la publicación del libro sobre genética médica por Efroimson en 1964. Ya en 1971 se crea un instituto de genética médica dirigido por el prestigioso citogenetista Bochkov, incorporándose la Unión Soviética a los niveles de conocimiento de genética que tenía el mundo occidental.

## **FUNDACIÓN**

### **El número cromosómico: Tjio, Lejeune, Ford, Jacobs, Nowell, y otros muchos**

#### *Nacimiento de la citogenética humana*

El nacimiento de la citogenética humana moderna corresponde con el momento en el que se publica que el número diploide de cromosomas en la especie humana es 46. Esto fue descubierto por Tjio en Lund, Suecia, y publicado por Tjio y Levan en 1956 (49). En el mismo año Ford y Hamerton (50) en el Harwell Medical Research Council Unit en Inglaterra, confirman este número examinando cromosomas meióticos en los que cuentan 23 bivalentes en el tejido testicular humano. Este hito trascendente ocurrió en el momento en el que fue posible, gracias a un avance importante en las técnicas citológicas, el choque hipotónico, descrito por Hsu (51). Estas técnicas posteriormente fueron mejoradas gracias al uso de un agente estimulante de la división de los linfocitos, la fitohemaglutinina, descrito por Moorhead y col en 1960 (52).

Dada la sencillez del procedimiento para observar los cromosomas humanos, inmediatamente comenzó el estudio de determinados síndromes de origen genético, descubriéndose al final de la década de los 50 el origen cromosómico de alguno de ellos.

Merece, no obstante, volver la vista atrás e intentar conocer qué circunstancias hicieron que se conociera tan tarde el número de cromosomas de la especie humana y se empezara a relacionar con la patología médica.

En la primera mitad del siglo XX son numerosos los estudios citogenéticos realizados en diferentes organismos vivos, fundamentalmente en vegetales. Por eso no es de extrañar que la persona descubridora del número de cromosomas en el hombre, Joe Hin Tjio, estuviera trabajando en ese momento en genética vegetal en Zaragoza.

Los primeros dibujos de cromosomas humanos que se conocen fueron realizados por Flemming en 1882 (9). Harper (2) hace constar que el primer análisis de cromosomas humanos fue realizado por Hans Winiwarter en 1912 en Lieja (53). Winiwarter, como otros investigadores más tarde, utilizó tejido testicular para analizar los cromosomas meióticos. Otros autores utilizaron tejidos tumorales humanos. La razón de usar casi exclusivamente testículo y tumores está en la ausencia de un agente estimulador de las divisiones celulares, por eso las observaciones eran directas, esto es, en células sin cultivar, y en tejidos que espontáneamente tenían un número suficiente de células en división como son los órganos productores de gametos, testículo, o los tejidos tumorales.

Winiwarter observó y describió que el número haploide era 24 en espermatozoides y el número diploide era 47 en espermatogonias, es más, llegó a la conclusión de que la dotación cromosómica de la mujer eran 48 cromosomas con 2 cromosomas X y la del varón 47 cromosomas con un solo cromosoma X, incluso pensó que era normal que hubiera una cierta variabilidad en el número cromosómico de los humanos y como él había estudiado tanto a blancos caucásicos como a negros de procedencia africana, se llegó a pensar que el número cromosómico podía ser diferente en ellos. Painter en los Estados Unidos (17), utilizando también tejido testicular, publica que el número haploide es 24 y el diploide 48. No obstante en una de sus publicaciones (54) Painter escribe «en mi propio material el conteo va desde 45 a 48 cromosomas, aunque en las imágenes más claras solo se observan 46».

Dada la mala calidad, visto desde la perspectiva actual, de las extensiones cromosómicas, no es de extrañar que nadie pusiera en duda dicho número cromosómico. Tampoco es casualidad que el descubrimiento del número cromosómico se realizara en el Instituto de Genética de Lund en Suecia, que estaba dedicado a la citogenética del cáncer y que el jefe, Albert Levan, hubiera sido previamente un citogenetista vegetal acostumbrado al uso de la colchicina (55).

Pero como se ha citado previamente, un avance técnico crucial fue necesario, el choque hipotónico, que fue empleado por E. Slifer (56) para estudiar insectos y posteriormente por tres grupos que lo desarrollaron en mamíferos: Hsu (51), Hughes (57) y Makino y Nishimura (58).

No obstante Tjio no fue el primero en descubrir que el número cromosómico correcto era 46, aunque sí fue el primero en describirlo. Según escribe Harper (59), Eva e Yngve Melander, también en el Instituto de Genética Humana de Lund, dos años antes, observaron en tejido embrionario hepático que el número cromosómico era 46, pero sus hallazgos nunca fueron publicados, quizás porque estaba bien asentado el número 48.

Como ya se ha mencionado antes, Tjio estaba trabajando en Zaragoza, era el jefe de la unidad de citogenética de plantas de la Estación Experimental Aula Dei, un instituto de investigación agronómica de Zaragoza. Tjio había nacido en 1919 en la isla de Java, por aquel entonces holandesa. Sus padres eran chinos, estudió en la escuela de agronomía de Bogor en Java y heredó de su padre la afición por la fotografía, que le ayudaría mucho posteriormente en el recuento cromosómico. Fue apresado por el ejército japonés en la segunda guerra mundial y recluido en un campo de concentración durante tres años. Al finalizar la guerra emigró a Holanda y pronto encontró trabajo en el Real Colegio de Agricultura de Copenhague. Posteriormente fue contratado para trabajar en Zaragoza desde 1948 hasta el año 1959. A la vez que trabajaba en Zaragoza consiguió un estatus de investigador visitante en el Instituto de Genética Humana de Lund, donde pasaba alrededor de 3 meses cada año, allí fue donde realizó su descubrimiento. En 1959 viaja a Estados Unidos donde trabajó como investigador en el Instituto de Artritis y Enfermedades Metabólicas de los National Institutes of Health, en Bethesda. Murió en Estados Unidos en el año 2000 a los 81 años de edad.

Existen varias publicaciones acerca del descubrimiento del número cromosómico humano y de las circunstancias y discusiones previas y posteriores a la publicación clásica de Tjio y Levan de 1956 (49). Entre estas publicaciones merece la pena citar las de Hulten, 2002 (60) y las publicadas cuando se cumplía el 50 aniversario: Arnason, 2006 (61), Harper, 2006 (59) y Gartler, 2006 (62).

Maj Hulten (60) cuenta cómo siendo ella estudiante en el Instituto de Genética Humana de Lund, la noche del 23 de Diciembre de 1955 fue invitada por Tjio a mirar una preparación microscópi-

ca de cromosomas humanos y le dijo «por favor, cuéntalos», Hul-ten respondió «ha perdido dos cromosomas», pero tras contar metafase tras metafase, no había duda, todas tenían 46 cromosomas. En el mismo artículo, Maj Hulten continúa narrando la disputa entre Joe Hin Tjio y Albert Levan por quién sería el primer autor de la publicación. Para Hulten no cabe duda que Tjio fue quien estableció el número, es más, en ese momento Levan estaba en estados Unidos, pero el conteo no habría sido posible sin la utilización de la colchicina que Levan había introducido. Incluso había una tercera persona Rune Grubb del laboratorio de Virus del Instituto de Bacteriología de Lund, que había suministrado el cultivo de fibroblastos pulmonares fetales donde se realizó el estudio, cultivos que mantenía con el propósito de definir los antígenos ABH y Lewis. La descripción que realiza Arnason (61) difiere en cuanto a las fechas y las razones que intervinieron en la disputa por la publicación.

Gartler (62) en la narración de este hecho, refiere las tremendas consecuencias, no sospechadas, que supuso la publicación del número cromosómico y que tuvo efectos notables en más de un área de la genética humana.

Inmediatamente después de la publicación de Tjio y Levan, se celebró en 1956 el primer Congreso Internacional de Genética Humana en Copenhague, allí Tjio presentó su descubrimiento y de allí es de donde nos ha llegado la fotografía tomada por Victor McKusick que aparece en numerosas publicaciones y en la que se ve a Joe Hin Tjio con varios microscopios y varias fotografías de metafases humanas para demostrar y ver el número 46, apareciendo en la pared el rótulo siguiente «Joe Hin Tjio, Spain».

Cuando se publicó el artículo de Tjio y Levan, se enfatizó que el propósito de conocer el número exacto de cromosomas en el hombre facilitaría el estudio de la evolución de los cromosomas en el cáncer. En ese momento nadie intuyó la relación de los cromosomas con enfermedades congénitas y mucho menos el impacto que tendría sentando las bases de la Genética Médica.

Tras el descubrimiento del número cromosómico humano, la descripción de un método sencillo para el estudio y obtención de los cromosomas humanos realizada por Morhead y col en 1960 (52), supuso un enorme avance en todos los aspectos de la Genética Humana, abriendo nuevas esperanzas en el análisis de las enfermedades congénitas en la especie humana.

Pero poco antes de la estandarización de las técnicas citogé-

ticas, se empezó a descubrir y describir su patología, así en 1959 se describen las anomalías citogenéticas correspondientes al síndrome de Down por Lejeune y col (63), el síndrome de Klinefelter por Jacobs y Strong (64) y el síndrome de Turner por Ford y col (65). Poco después se describen las mujeres con cariotipo XXX (66) y los varones XYY (67). Nowell y col en 1960 descubren la fitohemaglutinina y su capacidad de estimular los linfocitos (68) y en el mismo año Moorhead y col (52) describen el método clásico y, con pocas variantes, actual para la obtención del cariotipo.

En este mismo año, 1960, se describe un cromosoma de pequeño tamaño, denominado Philadelphia que se encontró en pacientes de leucemia mieloide crónica por Nowell y Hungerford (69), dando inicio a la citogenética oncológica.

Con solo este bagaje, pero todo este bagaje, se podría decir que comienza la Citogenética Médica en varios hospitales en todo el mundo, incluido España.

El hecho de que la primera alteración cromosómica descrita en la especie humana fuera el síndrome de Down no debe de extrañar ya que las numerosas malformaciones de este síndrome ya hicieron pensar a Waardenburg (70) y a Davenport (71) en 1932, de forma separada que podía haber una alteración citogenética. El grupo de Jeraume Lejeune, Marthe Gautier y Raymond Turpin, que trabajaban en el departamento de Pediatría del Hospital Trousseau de París, hizo el estudio del síndrome de Down en cultivos de fibroblastos de fascia lata, observando que había una trisomía de uno de los cromosomas más pequeños. Su trabajo se publicó en *Comptes Rendues of the Acedemie des Sciences* ya que Turpin, el jefe de la unidad, era académico (63).

Al mismo tiempo había otros grupos realizando el mismo trabajo, merece destacar aquí el grupo de Paul Polani en el Guys Hospital, que se dedicó fundamentalmente a estudiar los niños con síndrome de Down que habían nacido de madres jóvenes, ya que siguiendo los estudios previos de Penrose, pensaron que la etiología cromosómica podría ser diferente. Este grupo, un año después de la publicación de Lejeune, reporta la primera traslocación cromosómica en un síndrome de Down (72) y poco después, en el mismo año, Carter y col (73) describen una familia con traslocación balanceada y síndrome de Down, demostrando la importancia de realizar un cariotipo cuyo trascendencia no es solo diagnóstica sino también capaz de predecir riesgos para futuros descendientes.

Como se mencionó previamente, en el mismo año otros grupos describieron anomalías citogenéticas relacionadas con un grupo de enfermedades que actualmente se denominan alteraciones de los cromosomas sexuales. Se venía sospechando que en este grupo de enfermedades se descubrirían anomalías de número de los cromosomas sexuales. Uno de los pilares fundamentales fue el descubrimiento serendípico de la cromatina sexual o del, posteriormente denominado, corpúsculo de Barr. Murray Barr publica en 1949 junto con su estudiante doctoral Ewart Bertam (74) el descubrimiento que éste hizo dentro de un proyecto de neuroanatomía. Ambos eran neuroanatómistas, estudiaban la estimulación eléctrica de neuronas de gato y observaron que el satélite nucleolar descrito previamente por Santiago Ramón y Cajal, solo aparecía en las hembras y concluyeron que representaba a uno de los cromosomas X. Hoy sabemos que este corpúsculo corresponde a un cromosoma X inactivado.

Polani en el Guys Hospital de Londres estaba estudiando el síndrome de Turner, dentro de un trabajo más amplio de las cardiopatías congénitas. Entre otros muchos hallazgos, Polani y col publican en 1954 (75) que las mujeres con síndrome de Turner no tienen el corpúsculo de cromatina sexual por lo que supuso que su dotación de cromosomas sexuales sería X0. Poco después de que se hubiera establecido el número cromosómico, escribe Harper (2), Charles Ford en el MRC de Harwell había conseguido un tipo de tejido que facilitaba el estudio cromosómico, este era el cultivo de células de médula ósea. Polani le suministró una muestra de médula ósea de una paciente con síndrome de Turner y otra muestra de él mismo, observando que las mujeres con síndrome de Turner tenían un cariotipo 45,X y demostrando que la teoría de Polani era cierta. Este hallazgo se publicó (65) en el mismo año del descubrimiento del síndrome de Down, 1959. En el mismo año, Patricia Jacobs, entonces una estudiante doctoral en el MRC de Edimburgo, estaba trabajando en el cultivo de médula ósea para analizar cromosomas. Un endocrinólogo del hospital, John Strong, le propuso estudiar a un paciente con el síndrome de Klinefelter, encontrándose de forma inesperada que tenía 47 cromosomas con dos cromosomas X y un cromosoma Y (64).

Estas dos publicaciones revolucionaron el conocimiento del papel de los cromosomas en la determinación sexual y abrió un amplio campo a la clínica endocrinológica y pediátrica sobre las alteraciones de la determinación y del desarrollo sexual. Hasta entonces,

todo lo relacionado con los cromosomas y la determinación sexual se había inferido de lo que se sabía de la *Drosophila*. Ahora, en 1959, se abría un nuevo campo que sugería que había que hacer estudios citogenéticos a un amplio grupo de pacientes. Este es la forma en la que la citogenética se implanta en los hospitales y por lo tanto es el comienzo de la actividad de la genética médica en los hospitales.

No es de extrañar, por lo tanto, que a partir de 1960 aparezca una cascada de publicaciones de hallazgos citogenéticos en pacientes afectados de trastornos del desarrollo sexual pero también de malformaciones y retraso mental. Se puede decir que en el inicio de la década de 1960 se empieza a escribir el catálogo de enfermedades humanas debidas a aberraciones cromosómicas.

Polani denominó a 1959 como el «año maravilloso» ya que no solo se describe el síndrome de Down con trisomía 21, el síndrome de Turner con monosomía X, o el síndrome de Klinefelter con trisomía XXY, en ese mismo año Ford y Polani (76) publican un caso de mosaicismo XX y XXY en un paciente con síndrome de Klinefelter y Patricia Jacobs y col (66) publican el caso de una «supermujer» con cariotipo 47,XXX.

Para finalizar con el descubrimiento de las otras dotaciones cromosómicas incluidas en el catálogo de anomalías del desarrollo sexual, se debe de mencionar el cariotipo 47,XYY descrito por Sandberg y col en 1963 (67) al que poco después, en 1965, se le asocia con tendencias delictivas o criminales tras el estudio que realizaron Jacobs y col en 1965 en un hospital penitenciario de alta seguridad en Gran Bretaña en el que encuentran un exceso de cariotipos XYY (77).

Si 1959 fue el año maravilloso para los cromosomas sexuales, 1960 lo fue para los autosomas. Ya se intuía por los conocimientos en citogenética vegetal, que las trisomías autosómicas serían mal toleradas, y si la trisomía de unos de los cromosomas humanos más pequeños, el cromosoma 21, producía un síndrome multisistémico, sería difícil encontrar otros seres humanos polimalformados con una trisomía de un cromosoma mas grande. Coincidieron en el mismo año, 1960, la descripción de las otras dos trisomías autosómicas que se conocen, la trisomía del cromosoma 18 y la trisomía del cromosoma 13.

Edwards (78) describe el caso de un niño polimalformado que tiene un cromosoma extra pero que no es el 21. Patau y col (79) describen una trisomía del cromosoma 13 en un niño con paladar hendido, polidactilia y otras malformaciones. Estas dos descripcio-

nes, casi simultáneas, hicieron pensar que habría una cascada de trabajos describiendo trisomías en el resto de los cromosomas. No fue así, pero estimuló de gran manera el estudio cromosómico de todos los niños que tenían malformaciones y retraso mental o del desarrollo psicomotor.

Merece la pena recordar el descubrimiento del primer cromosoma implicado en el cáncer, el cromosoma Philadelphia (69), y comparar la armonía de los dos autores del artículo con los problemas que tuvieron Tjio y Levan, probablemente debido a que estos últimos eran dos egos fuertes.

Recientemente Nowell (80) recuerda las circunstancias que rodearon su descubrimiento, junto con Hungerford, en 1960 del cromosoma que se denominó Philadelphia. También Koretzky (81) escribe sobre los que supuso la relación de una alteración cromosómica con un determinado cáncer, la leucemia mieloide crónica.

Ya Boveri en 1914 (82) tras observar que las células tumorales son genéticamente inestables, había predicho que los tumores se originaban de una única célula y que ésta dejaba de responder a las regulaciones de crecimiento externas ya que ganaba o perdía cromosomas críticos, y que los tumores resultaban de alteraciones genéticas que no eran visibles al microscopio ya que no implicaban cromosomas enteros. Esta hipótesis de Boveri, conocida como «*stem line concept*», tuvo que esperar casi 40 años para ser corroborada, la prueba fue el cromosoma Philadelphia, lo que en un principio se pensó era una deleción de un cromosoma pequeño y, posteriormente, una traslocación recíproca balanceada entre dos cromosomas.

La mejora en las técnicas citogenéticas permitió observar anomalías cromosómicas y relacionarlas con malformaciones y alteraciones del desarrollo humano, como se ha referido más arriba. En cambio eran muy pocos los tumores que estudiaron en los inicios de la citogenética humana y, por razones de facilidad y disponibilidad, estos fueron las leucemias. En cualquier caso, uno de los primeros estudios fue el realizado por Bayreuther en 1960 (83) que concluye diciendo que el complemento cromosómico de muchos tumores humanos era normal.

Ese mismo año, 1960, Nowell y su estudiante doctoral Hungerford publican en Science una breve nota de menos de un cuarto de página en la que refieren que tras el estudio de siete casos de leucemia mieloide crónica, todos tenían un cromosoma más pequeño de lo normal y sugieren una relación causal.

Este es el relato que hace Nowell años más tarde: «Fue una serendipia que me dedicara a la citogenética tumoral. Empecé a trabajar en la Universidad de Pensilvania en 1956 después de haber estado 2 años en la Navy estudiando carcinogénesis por radiación y trasplante de medula ósea. Estaba particularmente interesado en las leucemias y linfomas porque en el primer año de mi residencia en Philadelphia había estado dedicado a las neoplasias hematopoyéticas. En Pensilvania empecé a utilizar cultivos de corta duración para estudiar las células leucémicas, las hacía crecer en pequeñas láminas y las exponía a la acción del agua del grifo antes de teñirlas, una forma de choque hipotónico, con ello conseguía unas preparaciones microscópicas aceptables, con cromosomas fáciles de contar, pero no tenía nociones de citogenética y no encontré a nadie en el campus interesado en cromosomas humanos. Casualmente estaba dirigiendo la tesis doctoral de David Hungerford que intentaba conseguir material para una tesis en cromosomas humanos.» Poco después continúa «Hungerford identificó un cromosoma pequeño característico en dos pacientes de leucemia mieloide crónica» continúa escribiendo como mejoraron las técnicas hasta llegar al análisis de siete pacientes, que fueron la base de su publicación. Un año después, en 1961, Tough y col (84) a este pequeño cromosoma le denominan Philadelphia. Pero no fue hasta 1970, poco antes de que aparecieran las técnicas de bandeo, cuando se identifica con precisión a este cromosoma con el par 22, este descubrimiento fue realizado por el grupo español de Valencia encabezado por Félix Prieto usando técnicas de autoradiografía (85).

Más tarde, las técnicas de bandeo (véase más abajo) fueron las herramientas que permitieron a Janet Rowley en 1973 (86) demostrar que el cromosoma Philadelphia no era una deleción del cromosoma 22 sino una traslocación entre los cromosomas 9 y 22 —esto producía una imagen de cromosoma 22 más pequeño de lo habitual, de ahí su confusión con una deleción—. Este descubrimiento ha tenido profundas implicaciones en la comprensión del origen del cáncer y sobre todo fue el gran impulsor de la citogenética del cáncer.

Aquí me gustaría hacer una pequeña reflexión de la importancia de las tesis doctorales bien dirigidas y con buenos estudiantes, ya que el cromosoma Philadelphia fue el resultado de una de estas tesis, previamente habíamos citado el descubrimiento de la cromatina sexual o corpúsculo de Barr, también realizado por un estudiante doctoral y refrendado por su director.

## Nomenclatura

Los primeros años de la citogenética fueron muy fructíferos por el hallazgo constante de anomalías cromosómicas relacionadas con la patología humana. Pero estas anomalías eran difíciles de describir ya que solo se podían diferenciar los cromosomas por su tamaño y por su forma.

Afortunadamente, lo que visto con la perspectiva del tiempo fue una gran idea, se hizo una reunión que decidiese la terminología y nomenclatura de una ciencia, la citogenética que en ese momento estaba surgiendo y necesitaba ser entendida por los que leían las publicaciones. Esta reunión fue la Conferencia de Denver, posteriormente ha habido más conferencias, cada vez que la necesidad (nuevas técnicas, mejor resolución, etc.) lo ha hecho obligatorio, hasta llegar a lo que hoy en día es la clasificación ISCN (*International System for human Cytogenetic Nomenclature*) (87).

La conferencia de Denver fue promovida por Charles Ford, una de las personas más implicadas en los descubrimientos de la patología citogenética humana, y organizada por Theodore Puck de Denver y cuyos resultados se publicaron en varias revistas (88-90). En esta conferencia participaron 14 investigadores que representaban a todos los laboratorios que están trabajando en cromosomas humanos. El sistema que propusieron ha llegado hasta nuestra época ya que ha sido la base para subsecuentes mejoras y refinamientos en la clasificación. No obstante, se cometieron algunos errores menores y que no se han corregido para evitar confusión. Así el cromosoma 21, responsable del síndrome de Down, era el segundo más pequeño, ya que el más pequeño, se pensó, era el cromosoma 22. Pues bien, ahora se sabe que el cromosoma 21 es más pequeño que el 22.

Tres años más tarde de la reunión de Denver, en 1963, Penrose organiza la conferencia de Londres, *London Conference*, (91) donde definitivamente se establecieron los grupos cromosómicos, no se podía llegar a más, tal y como hoy les conocemos: A, B, C, D, E, F y G. Hicieron falta otros tres años para que una nueva conferencia, *Chicago Conference* (92), corrigiera algunos errores y sentara la base definitiva de la nomenclatura de las anomalías cromosómicas.

Posteriormente, cada vez que ha aparecido una técnica que mejoraba la resolución de los cromosomas (véase más abajo) ha habido una reunión de la ya llamada ISCN para implementar las mejoras en el sistema de nomenclatura. De esta forma la aparición de las

bandas Q y G se recogió en la *Paris Conference* de 1971 (93). La aparición de las bandas de alta resolución o los cromosomas prometafásicos propició el ISCN de 1981 (94). La aparición de las técnicas de hibridación in situ fluorescente, FISH, requirió el ISCN de 2005 (95) con notables mejoras en 2009 (96). Desde 1976 se elige un *Standing Committee* que se encarga de hacer las puestas al día y las nuevas ediciones del ISCN.

### *Refinamiento de las técnicas citogenéticas, técnicas de bandeo*

Al final de los 60 se descubren varias técnicas de bandeo que permiten identificar individualmente los cromosomas. Primero Torbjorn Casperson y col en 1970 (97) utilizando la fluorescencia con quinacrina y un año después Marina Seabright (98) mediante digestión con tripsina, se consigue que los cromosomas tengan el patrón característico de bandas G. Estas técnicas citológicas permiten discriminar perfectamente un cromosoma de otro, posibilitando un análisis más fino de los reajustes cromosómicos.

Estas dos técnicas de bandas, que producían un patrón similar de bandas claras y oscuras en cada uno de los cromosomas, se denominaron bandas Q a las de fluorescencia debido a que se utilizaba la quinacrina como tinción fluorescente y bandas G a las producidas por digestión por tripsina y posterior tinción con Giemsa. Las primeras precisaban de un microscopio de fluorescencia, más caro e incomodo de usar, mientras que las segundas solo precisaban un microscopio de campo claro, razón por la que éstas han pasado como técnica rutinaria de elección hasta nuestros días.

Pero no han sido los únicos métodos de bandas, cabe destacar aquí las bandas R o reversas, un negativo de las anteriores, descritas por Dutrillaux y Lejeune (99) y casi solo utilizadas por los franceses, salvo en casos muy especiales.

Estas técnicas daban como resultado un cariotipo con un patrón de 500 bandas por metafase. Con el paso del tiempo se pedía una mayor resolución, Yunis en 1976 (100) publica el método de bandas de alta resolución utilizando cromosomas prometafásicos, con lo que se llegó a las 1.000 bandas por metafase, propiciando una mejor identificación de anomalías citogenéticas.

Las bandas G y sus mejoras permitieron el análisis pormenorizado de cada cromosoma lo que acrecentó la definición de las di-

ferentes aberraciones cromosómicas y posibilitó el descubrimiento de nuevos síndromes citogenéticos en la patología clínica o, dicho de otra forma, pacientes que previamente se había informado que tenían un cariotipo «normal», ahora se les volvía a estudiar descubriéndose deleciones, inversiones y duplicaciones cromosómicas.

Paralelamente se descubrió otra técnica de tinción de los cromosomas que permitía observar intercambios intracromosómicos, la técnica del análisis de los intercambios de cromátidas hermanas: Esta técnica, denominada SCE (*sister chromatid exchanges*), fue descrita por Latt en 1973 (101) y por Perry y Wolf en 1974 (102). Las SCEs representan intercambios simétricos de segmentos de ADN entre cromátidas hermanas de cromosomas metafásicos.

El procedimiento para visualizar estos cambios se basa en la tinción diferencial de las cromátidas hermanas, técnica también denominada de los cromosomas arlequinados. Para ello, los linfocitos se cultivan en presencia de 5-BrdU que se incorpora a las cadenas de ADN que se sintetizan dentro del cultivo, esto hace que las metafases que están en segunda división tengan un brazo cromosómico con la cadena original de ADN y otro brazo que tiene ambas cadenas con el 5-BrdU incorporado, posteriormente, durante el procesamiento de los cultivos se consigue, mediante determinados procesos, que las cadenas con 5-BrdU se tiñan de forma clara o débil.

En cada metafase normal se pueden observar varios intercambios, entre 4 y 8. El análisis de SCEs en linfocitos humanos se utiliza fundamentalmente en estudios de determinadas enfermedades de inestabilidad cromosómica como el síndrome de Bloom (103). Debido a la tinción diferencial, esta técnica permite reconocer las metafases que tras el cultivo están en primera división, las que están en segunda división y las que están en tercera división, por ello el test de SCE también han servido para estimar el índice de proliferación celular (104).

## **La genética en los hospitales**

¿Qué hace que la Genética Humana se convierte en Genética Médica y Genética Clínica? cuatro hechos relevantes que coinciden en el tiempo:

1. Epidemiología genética
2. Métodos citogenéticos

3. Bioquímica genética
4. Diagnóstico prenatal

### *La epidemiología de las enfermedades genéticas*

La epidemiología de las enfermedades genéticas se desarrolló entre 1940 y 1960 en algunas instituciones pioneras. En Copenhague liderado por T. Kemps, en Michigan con J.V. Neels o Alan Stevenson en Irlanda del Norte primero y Oxford después. Estos científicos, junto a otros muchos, contribuyeron al conocimiento de la prevalencia, la distribución, el modo de herencia, la heterogeneidad y la tasa de mutaciones de las enfermedades hereditarias.

El trabajo de estos pioneros puso de relieve la importancia de las enfermedades hereditarias y la necesidad de su abordaje específico, esto es, por personas entrenadas para tal fin. Evidentemente, esto no habría tenido éxito si no hubieran aparecido herramientas, tanto clínicas como de laboratorio, que facilitaban el abordaje de estas enfermedades. Es en estos años cuando se implantan las técnicas de citogenética que son el germen del laboratorio específico en los nacientes departamentos de genética, y el análisis de marcadores, ya fueran de laboratorio o fenotípicos, como los dermatoglifos que fueron una herramienta también específica de estos departamentos

### *Citogenética*

En el inicio de la década de 1960, fundamentalmente diversos grupos británicos habían descrito la mayor parte de las anomalías cromosómicas de número que eran compatibles con la vida. Estas anomalías cromosómicas se correspondían bien con anomalías del desarrollo sexual, diagnosticadas y manejadas en Pediatría y/o Endocrinología, bien con síndromes polimalformativos con o sin retraso mental, todos ellos vistos en departamentos de Pediatría.

La conjunción de estos descubrimientos hace que en el inicio de esta década se instauren laboratorios de citogenética en los grandes hospitales, unos en departamentos de Pediatría, otros en departamentos que trataban pacientes con malformaciones congénitas como Cardiología o Medicina Interna. Si además se añade que en la misma época se descubre la primera anomalía citogenética en un tipo de leucemia, los laboratorios dedicados específicamente a cito-

genética del cáncer también inician su andadura, ya dentro del laboratorio de citogenética general o de forma aislada en laboratorios de citogenética hematológica.

Una vez que el diagnóstico clínico de algunas enfermedades se basa en pruebas de laboratorio, como es la citogenética, se hace necesario dictaminar un pronóstico y establecer un tratamiento, que en el caso de las enfermedades de origen genético sería el consejo genético.

Paralelamente, el conocimiento de la herencia de algunas enfermedades sistémicas o multisistémicas que precisaban no solo un consejo genético sino una visión integral de la familia, no del individuo, hizo que se aproximaran los intereses de los clínicos que manejaban estas enfermedades genéticas con los intereses de los incipientes laboratorios de citogenética. De esta forma, como más abajo se verá, surgen diferentes núcleos que serán el nodo de los futuros servicios de genética médica o clínica tanto en los Estados Unidos como en Europa, aunque con algunas diferencias iniciales.

En la primera mitad del siglo, ya en las universidades de Gran Bretaña se habían dotados cátedras de genética humana, pero en los hospitales no había servicios específicos de genética. Esto no fue impedimento para que la buena íntima conexión entre las universidades y los hospitales británicos propiciara que la mayoría de los descubrimientos iniciales de la citogenética humana se hicieron en Gran Bretaña. Los grupos de Polani, Ford, Jacobs, Penrose se habían dedicado de forma extraordinaria y sistemática a su estudio y desarrollo.

En cambio, la Genética Médica o Clínica donde se inicia de forma poderosa es en Norteamérica a través del interés por las enfermedades genéticas de varios departamentos pioneros de Medicina Interna y Pediatría. Se puede decir en los Estados Unidos y Canadá hubo tres nodos principales desde donde se expandió la genética y los genetistas médicos.

En Europa el nacimiento de la Genética Médica está más difuminado ya que cada país tiene su propio nodos o nodos. En el caso del Reino Unido, en Londres merece ser destacado el grupo de Polani, pediatra muy interesado por las cardiopatías congénitas, y el grupo del MRC de Edimburgo, fuerte en efectos genéticos de las radiaciones.

En otros países europeos cabe destacar a Jan Mohr en Dinamarca, creador de la Asociación Europea de Genética Humana (ESHG),

Friedrich Vogel en Alemania, Herman Van den Berghe en Bélgica, Jean de Grouchy en Francia o Marco Fraccaro en Italia. El caso español se describe en el capítulo final.

Estos núcleos tienen la misión, por un lado de estudiar las enfermedades genéticas y por otro, establecer el consejo genético como un proceso médico necesario en la práctica médica y todo ello lo basan en unas pruebas de laboratorio específicas que ellos mismos crean y dotan en sus departamentos.

### *Genética clínica*

Los pioneros en la naciente especialidad de Genética Médica, obviamente provenían de otras especialidades médicas existentes, muchos eran internistas o pediatras, en Estados Unidos además algunos dentistas también fueron pioneros y contribuyeron de forma notable al desarrollo de la sindromología.

Previamente, sobre todo en la primera mitad del siglo XX, algunas especialidades habían contribuido de forma notable a lo que después sería la genética clínica. Este es el caso de la oftalmología con Waardenburg, Franceschetti y Klein que entre otras, escribieron un libro monumental llamado «Genética y oftalmología» publicado en 1961 (105). La dermatología hizo también grandes contribuciones a la genética, probablemente porque como en el caso de la oftalmología, las lesiones eran visibles y habitualmente no letales lo que permitía la existencia de familias extensas afectadas de enfermedades hereditarias. Uno de los dermatólogos más influyentes fue Cockayne quien escribió un tratado de enfermedades hereditarias de la piel, «Anomalías hereditarias de la piel y sus anexos» (106) publicado en 1933.

Peter Harper (2) escribe que la designación del primer genetista médico debe caer en Julia Bell, estudiante en Cambridge en el tiempo en el que los trabajos de Mendel fueron redescubiertos. Julia Bell era matemática y estadística y contribuyó en la escritura de la obra magna de Pearson «*Treasury of the human inheritance*» (20). Julia Bell que también estudio Medicina, supo combinar el conocimiento científico de la genética con la habilidad clínica y lo aplicó en las sucesivas ediciones de ese libro entre 1922 y 1958. Siguiendo a Harper, merece la pena citar varios libros, que junto con los anteriores, formaron el cuerpo de doctrina de la Genética Médica.

Uno de ellos es el libro de Otto Lous Mohr «Herencia y enfermedad» (107) publicado en 1934, otros libros mencionados por Harper son el de John Fraser Roberts «Introducción a la Genética Médica» (108) publicado en 1940, el de Tage Kemp «Genética y enfermedad» (109), que apareció en 1951 y, por último, el libro de Curt Stern «Genética Humana» (110) publicado en 1950.

Victor McKusick en 1975 publica un artículo sobre la conversión de la genética humana en una disciplina clínica (111). En él describe la coincidencia de tres acontecimientos fundamentales. Por un lado el descubrimiento de las anomalías cromosómicas de los síndromes de Down, Klinefelter, Turner, Patau y Edwards y el impulso consiguiente de las técnicas de citogenética. Por otro lado el desarrollo de la bioquímica genética que junto con la citogenética, hizo que las instituciones para retrasados mentales fueran para los científicos lugares atrayentes donde trabajar. A modo de ejemplo, McKusick cita el descubrimiento de una nueva alteración cromosómica en 1960, el síndrome XXXY, por Ferguson-Smith y col (112) y de una nueva enfermedad metabólica por Lesch y Nyhan en 1964 (113) en la institución Rosewood de Maryland. El tercer aspecto impulsor es el de la influencia de la genética matemática y de la genética de poblaciones junto con la inmunogenética, que posibilitaron el inicio de programas de cribado como el de la fenilcetonuria o el de la enfermedad de Tay-Sachs.

La confluencia de varias disciplinas para formar o fundar una especialidad clínica como el que se está narrando puede ser un caso único, ya que habitualmente es la fragmentación de una especialidad la que hacer surgir subespecialidades. Esta excepción puede venir de la extraordinaria fuerza e importancia de las bases científicas de la especialidad, la Genética Humana.

Aunque el consejo genético ya se venía practicando en las clínicas creadas en la etapa eugenésica, es en este momento, principios de los 60, cuando toma fuerza. Incluso algunos autores marcan el inicio de la genética clínica con el uso masivo del consejo genético, pero la genética clínica no es solo consejo genético o, dicho de otra forma, para llegar al consejo genético hay que haber pasado por todas las etapas clásicas de la medicina: el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento.

El conocido epidemiólogo Bradford Hill dice que la práctica médica consiste en responder a estas tres preguntas:

1. ¿Qué está mal? Lo que conduce al «diagnóstico»,
2. ¿Qué va a ocurrir? Lo conduce al «pronóstico»,
3. ¿Qué se puede hacer? Lo conduce al «tratamiento»

En genética clínica, se puede hacer una cuarta pregunta (111):

4. ¿Por qué ocurrió? Lo conduce a la «prevención»

### *Diagnóstico prenatal*

El diagnóstico prenatal comienza en la década de 1960. Los pioneros de la citogenética eran expertos en cultivos celulares, razón por la que muy pronto se pensó en cultivar amniocitos para realizar el análisis cromosómico de los fetos, una vez que se había demostrado que algunos síndromes malformativos estaban causados por anomalías cromosómicas. El primer diagnóstico de anomalía de los cromosomas fetales se realizó en amniocitos en 1967 por Jacobson y Barter (114) y un año más tarde Valenti y col diagnostican un síndrome de Down tras el cultivo de células fetales procedentes del líquido amniótico obtenido mediante amniocentesis (115). En la misma época, Nadler utiliza el líquido amniótico o las células fetales cultivadas para realizar análisis enzimáticos que sirvieran para diagnosticar las enfermedades hereditarias del metabolismo, como la galactosemia que fue la primera enfermedad metabólica en ser diagnosticada prenatalmente (116).

Rápidamente, la precisión diagnóstica del diagnóstico prenatal mediante amniocentesis y el bajo riesgo relativo del procedimiento, tanto para el feto como para la madre, convirtieron a este método en el procedimiento básico del diagnóstico prenatal moderno (117), hasta el punto de que se ha convertido en el «*gold standard*» con el que se comparan el resto de los métodos diagnósticos.

### **Diagnóstico clínico**

David Rimoin (118) escribe lo siguiente, «los gigantes en genética médica eran (1961) internistas —McKusick, Motulsky y Neel— y yo elegí mi residencia en medicina (interna), aunque soy pediatra por adopción».

Como se mencionó más arriba en Norteamérica hay tres nodos donde la genética médica surge y desde donde se expande. Estos

nodos fueron Montreal con Clarke Fraser, pediatra; Baltimore y la universidad John Hopkins con Victor McKusick, internista; y Seattle con Arno Motulsky, hematólogo.

Clarke Fraser desarrolló una genética médica basada en el modelo hospitalario, concretamente fundó el Departamento de Genética Médica del Children's Hospital de Montreal. Dado que tenía una orientación pediátrica y su campo de investigación eran las fisuras oropalatinas, supo combinar el estudio y el manejo de las enfermedades genéticas con el consejo genético. Clarke Fraser junto con Charles Scriver son los fundadores de la genética canadiense, a los que poco después se unió el grupo de Vancouver con Judith Hall como eminente dismorfóloga.

Arno Motulsky, de origen prusiano, crea en Seattle un departamento de genética clínica como un servicio médico más, dándole una orientación hematológica debido a sus orígenes académicos, pero también de medicina interna.

Victor McKusick no solo es el padre de la genética clínica en la costa este de los Estados Unidos, en Baltimore, en la John Hopkins University, sino que además es el referente de los otros dos nodos mencionados previamente. McKusick en 1957 funda el Departamento de Genética Médica siguiendo los términos formales de un departamento de medicina interna. Su mayor contribución ha sido la clasificación de las enfermedades genéticas, plasmado de forma incontestable en la base de datos OMIM (*Online Mendelian Inheritance In Man*). Su área clínica de interés fueron las enfermedades hereditarias del tejido conectivo, de forma que sus publicaciones, incluidos los libros de texto, son el referente de estas enfermedades genéticas.

Al igual que en el resto del mundo, la segunda generación de genetistas clínicos en los Estados Unidos se reparte por igual entre pediatras e internistas, médicos como James Neel en Ann Arbor, Aubrey Milunsky en Boston, David Rimoin en Los Angeles, Kurt Hirschhorn en Nueva York y Charles Epstein en San Francisco, contribuyeron a sentar las bases de la Genética Médica hospitalaria de forma rutinaria y a la creación de la Genética Clínica como especialidad médica.

Europa, que había empezado introduciendo la genética en los hospitales a través de la citogenética, mucho más avanzada que en Estados Unidos, quizás por los bien dotados departamentos de Radiation Genetics en Gran Bretaña —no se olvide el temor a una

guerra nuclear después de las bombas de Hiroshima y Nagasaki—, también crea poco después departamentos de genética con una base fundamentalmente clínica aun cuando el laboratorio de citogenética sigue siendo el leitmotiv, pero todos estos departamentos estaban poco o nada coordinados entre sí (2).

Aparte de los centros de genética del Galton Laboratory de Londres o del Medical Research Council en Oxford y en Edimburgo, con poca orientación clínica, en Gran Bretaña se puede considerar que el fundador de la genética clínica fue Paul Polani que en 1960 crea la Pediatric Research Unit en el Guy's Hospital de Londres. Polani fue un visionario de la genética que le condujo desde el estudio pormenorizado de las cardiopatías congénitas al descubrimiento de las bases cromosómicas del síndrome de Turner. Otro británico visionario, según Harper, fundador de otro departamento muy personal, fue Cyril Clarke en Liverpool, internista de formación, fue editor del *Journal of Medical Genetics*, tuvo contactos muy estrechos con McKusick en el desarrollo de la genética clínica y consideraba que la genética debía de formar parte de todos los campos de la medicina, no obstante él se consideraba modestamente como un genetista dominguero. La «tercera pata» de la genética clínica británica, es el departamento de consejo genético de John Fraser Roberts en el Great Ormond Street Hospital for Sick Children de Londres.

En Francia, dos pediatras de París, Raymond Turpin en el Hôpital Trousseau y Maurice Lamy en el Hôpital Necker-Enfants Malades fueron los pioneros. Baste recordar que éste último ya había publicado en 1943 el libro *Les applications de la Génétique à la Médecine*.

En Alemania Friedrich Vogel y Widuking Lenz son los jóvenes que empiezan a trabajar con la genética después del desastre Nazi y la emigración de científicos genetistas a los Estados Unidos.

Hecht y Prescott en la introducción del libro «*Trends and Teaching in Clinical Genetics*» (119) escriben: «La genética clínica es la disciplina padre de la genética médica. Como a todos los padres, raramente se les reconoce excepto en alguna ocasión especial. Habitualmente la genética clínica se ve como una actividad que consume mucho tiempo y que esta menos prestigiada que la enseñanza y la investigación. Además de consumir tiempo, su producción científica es menos relevante que la de la investigación, pero de ella surgen muchas ideas nuevas para la investigación». Hecht y Prescott continúan escribiendo «La genética clínica es un río grande, ...

es el río en el que la medicina y la genética humana fluyen juntos. Es también el río donde la genética médica y la sociedad se juntan. No solo es importante la corriente que aporta la información clínica, sino también la salida a los clínicos y la sociedad.»

En el mismo volumen, David L Rimoin (120) escribe acerca de los servicios de genética clínica que, como en otras especialidades, los divide en tres categorías: diagnóstico, terapia y prevención.

La mayor preocupación del genetista clínico es llegar al diagnóstico correcto antes de calcular, transmitir y explicar el consejo genético ya que en caso de error este podrá tener consecuencias irreparables, por eso el genetista, tendrá que tener en cuenta, más que en otras especialidades, las dificultades y escollos de las enfermedades genéticas. Muchos clínicos tienden a agrupar las enfermedades y el genetista, por el contrario, tiende y debe de individualizar las enfermedades debido a la heterogeneidad genética y clínica, el genetista clínico tiene que diferenciar entre genocopias y fenocopias. Otra dificultad para el genetista clínico es el diagnóstico por el fenotipo, la llamada *gestalt*, y la dificultad de describir un fenotipo en el que no hay otros marcadores, de aquí la importancia de la sindromología. Por lo tanto los requisitos personales y materiales para el diagnóstico según Rimoin, que siguen siendo válidos actualmente, serían:

- Experto clínico-sindromólogo
- Análisis de los árboles genealógicos
- Disponibilidad de interconsultas multidisciplinarias
- Acceso a todas las herramientas diagnósticas hospitalarias
- Laboratorio de citogenética
- Laboratorio de genética molecular
- Laboratorio de bioquímica genética

Con todo ello, el genetista clínico podría completar su actividad con:

- Pronóstico genético
- Consejo genético
- Diagnóstico prenatal
- Reconocimiento de los individuos en riesgo
- Tratamiento
- Registros

Rimoin escribe que los servicios genéticos pueden estar organizados en un sistema de 3 niveles:

1. Nivel I: Medicina primaria. Conlleva educar adecuadamente al médico de familia para reconocer enfermedades genéticas y/o acumulaciones familiares, o individuos en riesgo (incluido el prenatal).
2. Nivel II: Unidades de genética en hospitales pequeños. Muy unido a la medicina de familia pero dependiente de un centro regional del nivel III. Tendrá capacidades para hacer historias clínicas, hacer evaluaciones clínicas, y efectuar consejos genéticos. Puede tener un laboratorio básico de citogenética.
3. El nivel III o centro regional de genética tiene todo. McKusick establecía en aquel momento, 1975, que debía de haber uno por cada 1.000.000-3.000.000 individuos (111), hoy con el conocimiento y la demanda existente esa cifra está ampliamente superada.

En 1977 Opitz y Hermann escriben (121) que a diferencia del aforismo de Protágoras «el hombre es la medida de todas las cosas», el clínico está teniendo dificultades a la hora de tomar la medida del hombre, especialmente cuando el paciente es malformado. Continúan escribiendo, que la esencia de una buena genética clínica y, por ende, de una buena medicina, está en

- 1) Saber librarse de la ansiedad y encontrar TODO lo concerniente al paciente y sus familiares respecto a enfermedades, fenotipo, discapacidades, preocupaciones, personalidad, etc.
- 2) Tener la capacidad de buscar cuidadosamente con ojos observadores.
- 3) Saber interpretar los signos y síntomas.
- 4) Hablar objetivamente y empáticamente al paciente, sobre el paciente y para el paciente.

Continúan explicando los siete preceptos de la genética clínica:

- 1) Hacer una buena exploración clínica
- 2) Saber qué es normal
- 3) Saber cuándo indicar y qué pruebas de genética realizar
- 4) Tener coraje para enfrentarse a la ansiedad de no poder diagnosticar un síndrome o enfermedad genética
- 5) Tener claro que la genética clínica y el consejo genético es practicar la medicina
- 6) Buscar los aspectos científicos de la genética clínica
- 7) Hacer docencia.

## *Dismorfología*

Una faceta que imprimió carácter en la definición de los servicios de Genética Médica fue la sindromología o la dismorfología. La dismorfología, estrictamente hablando, se refiere al estudio de las malformaciones o, más específicamente, de las malformaciones congénitas estructurales. El término dismorfología fue introducido por David Smith como sustituto de la palabra empleada hasta entonces, teratología. Los clínicos que hasta ese momento no les gustaba ser denominados teratólogos, ahora sí les parecía bien ser dismorfólogos. David Smith, pediatra en Seattle, considerado uno de los padres de la dismorfología, escribió el libro *Recognizable patterns of human malformations* (122), considerado uno de los libros fundamentales en el diagnóstico dismorfológico.

Salvo por el desastre de la Talidomida, los clínicos no habían demostrado especial interés en las malformaciones congénitas. Realmente el desarrollo de la dismorfología no fue posible hasta que se produjo la conjunción de la clínica y de la genética como área de conocimiento, algo que ocurrió con los genetistas clínicos.

Entre los seguidores de David Smith, que contribuyeron a desarrollar el campo de la dismorfología, merece la pena citar a Robert Gorlin, odontólogo, profesor de patología oral en Minnesota y pionero de las malformaciones craneofaciales, Michael Cohen pediatra en Seattle, John Opitz, pediatra en Utah, Robin Winter, pediatra y después profesor en dismorfología en Londres y Judith Hall, pediatra en Vancouver.

La sindromología y la dismorfología son partes importantes de la genética clínica cuyo abordaje es complejo, no solo por el gran número de entidades dismorfológicas —síndromes, secuencias, asociaciones— sino por las dificultades para llegar a un diagnóstico preciso. A la rareza —incidencia muy baja— de estas entidades, hay que añadir la heterogeneidad y variabilidad, el aparente solapamiento, las diferentes etiologías —hereditaria monogénica, esporádica, ambiental, etc.— las diferentes patogenias —malformación, displasia, disrupción, deformación—, la falta de información sobre el pronóstico y sobre el manejo.

Hunter (123) apunta que a menudo el niño no tiene un signo dismórfico principal, sino que su fenotipo es diferente al común de su grupo étnico y de sus familiares. Un síndrome se reconoce sólo por un patrón de signos dismórficos específicos que tienen una causa común.

Por lo tanto el papel del dismorfólogo es averiguar el síndrome tan solo con las herramientas de la observación cuidadosa, con un gran reto, el del aspecto fenotípico general o *gestalt* pero sin olvidar los signos menores, definidos como variaciones físicas que están presentes en menos del 5% de la población general y que por sí mismos no tienen significado clínico alguno, como la inclinación de ojos, la nariz antevertida, el pliegue palmar transversal, etc.

De forma progresiva, desde el inicio de los servicios de genética médica, los defectos congénitos estructurales han ido pasando al dominio del genetista aun cuando no se haya establecido una causalidad genética. Por lo tanto el genetista debe tener en cuenta tanto los factores genéticos como los ambientales, así como la interacción de los dos (124). El dismorfólogo o genetista clínico, no solo hace una exploración exhaustiva del paciente sino que debe de objetivar cualquier variación, siempre que sea posible, midiendo, fotografiando, etc. Al final la *gestalt*/experiencia, y las bases de datos harán llegar a un diagnóstico sindrómico en una parte importante de los casos, pero nunca más allá del 70 %.

Muchos síndromes se diagnosticarán por la *gestalt* del paciente ya que concuerda con el modelo de un síndrome previamente descrito, para lo que habrá que consultar con la literatura, como el libro de D.W. Smith (122), el resto, con la habilidad del genetista, requerirá no solo la ayuda de libros, revistas y, mejor, bases de datos públicas o propietarias como el LDDDB (*London Dismorphology Database*) (125) o el POSSUM (126). Conviene tener en cuenta, que cada día se están descubriendo síndromes nuevos, baste repasar los últimos años de la revista *American Journal of Medical Genetics* en la que en 2008 se publicaron doce artículos y en 2009 diez artículos como posibles nuevos síndromes.

Aunque se utilicen todas las herramientas de diagnóstico, exploración, objetivación, computadores y bases de datos, etc., bastantes veces no se llegará a un diagnóstico y solo será posible, siguiendo la evolución del enfermo, cuando finalmente el cuadro fenotípico pueda ser reconocido.

Por último, conviene no precipitarse en el diagnóstico dismorfológico, ya que una vez puesta una «etiqueta», es difícil quitarla o cambiarla.

## Marcadores (dermatoglifos)

Las técnicas tradicionales del análisis genético se han reforzado mucho con la introducción del marcador genético. Un marcador genético es un rasgo, con control genético conocido, mono o poligénico, que se asocia en términos estadísticamente analizables con la entidad morbosas que se pretende analizar. La mayor parte de los marcadores genéticos son sistemas polimórficos. El primer sistema estudiado como marcador genético fue el sistema de grupos sanguíneos ABO y posteriormente, aun en uso, el sistema HLA. Conviene señalar que la asociación entre un locus polimórfico y una entidad patológica no significa forzosamente ligamiento de ambos genes.

Entre los rasgos con loci polimórficos están los dermatoglifos que son controlados poligénicamente.

Cummins empezó a interesarse por las huellas dactilares y palmares en la década de 1920. En 1926, junto con Midlo, propone el término «dermatoglifos» en un artículo publicado en *American Journal of Physical Anthropology* (127). Previamente, en 1892, Galton (128) había propuesto el uso de las figuras de las crestas dactilares como método de identificación.

Galton escribe en su autobiografía *«Many mental processes admit of being roughly measured. For instance, the degree to which people are bored, by counting the number of their fidgets. I not infrequently tried this method at the meetings of the Royal Geographical Society, for even there dull memoirs are occasionally read.... I have often amused myself with noticing the increase in that number as the audience becomes tired. The use of a watch attracts attention, so I reckon time by the number of my breathings, of which there are fifteen in a minute. They are not counted mentally, but are punctuated by pressing with fifteen finger successively. The counting is reserved for the fidgets»* tomado de Mange y Mange (39).

En 1939, Cummins (129) publica un artículo en el que describe las alteraciones de los dermatoglifos en los mongólicos, enfatizando que la principal potencialidad del análisis de los dermatoglifos es su utilidad como marcadores genéticos, tanto para variación hereditaria cuantitativa como cualitativa.

El interés por los dermatoglifos creció rápidamente en las décadas de 1920 y 1930. Así, Furuhashi (130) en Japón compara las huellas dactilares de varios grupos étnicos. En Canadá, MacArthur y Ford diagnostican a unos famosos quintillizos como monocigóticos

en base a los dermatoglifos y más tarde publican los criterios dermatoglíficos para establecer la monocigiosidad (131). Newman (132), en Chicago, compara los dermatoglifos de los gemelos monocigóticos y dicigóticos en relación con que sean diestros o zurdos. De esta forma aparecieron muchos artículos utilizando los dermatoglifos para compararlos con diferentes rasgos en gemelos y hermanos.

Estos primeros estudios fueron la base que poco después facilitó el que los dermatoglifos entraran por la puerta grande en la investigación en medicina, antropología y genética de poblaciones. Holt hace estudios del número dactilar en gemelos, encontrando un 90 % de heredabilidad en los gemelos dicigóticos, la mayor heredabilidad encontrada hasta entonces en un rasgo cuantitativo (133).

Todos estos estudios definitivamente establecieron que los dermatoglifos son marcadores genéticos, de forma que cualquier asociación entre determinados parámetros polimórficos de las huellas dactilares y un rasgo de etiología desconocida hace sospechar que éste tenga bases genéticas.

El libro de texto por excelencia sobre los dermatoglifos, es el que publican Cummins y Midlo en 1943 «*Finger Prints, Palms, and Soles*» (134). En él se describen los métodos del análisis de las huellas dactilares y palmoplantares y su estandarización para el estudio, análisis y valoración de los dermatoglifos. Previamente, Fisher había suministrado las necesarias bases matemáticas para establecer su correlación con las enfermedades (21).

A partir de 1956, cuando se introducen los estudios citogenéticos en la patología médica, se observaron patrones de dermatoglifos distintivos en el síndrome de Down (135), en la trisomía 13 y 18 (136) y en los síndromes de Turner y de Klinefelter (137), por lo que se amplía el estudio de los dermatoglifos a otras enfermedades que presumiblemente eran de origen genético o de etiología desconocida. Tal es el caso de las cardiopatías congénitas en las que el grupo español de la Fundación Jiménez Díaz, el de Sánchez Cascos hace varias publicaciones (138-140) o García Sagredo en Diabetes Mellitus (141). Previamente habían sido necesarios, dada la variabilidad polimórfica de las huellas dactilares y palmares, hacer estudios en población normal con la que comparar los patrones de los grupos de enfermos o grupos en estudio, el mismo grupo (142) hace un estudio amplio en población española.

La ausencia de otros marcadores polimórficos fáciles de estudiar, popularizó sobremanera el estudio dermatoglífico, de forma que en

los primeros 20 años de la práctica de la genética clínica, la toma de las huellas dactilares para su posterior análisis, formó parte de la rutina de la mayoría de las unidades o servicios de genética.

Todo ello hizo que la producción científica del análisis de los dermatoglifos fuera intensa y extensa en multitud de enfermedades. A modo de ejemplo, sirva el libro editado por Wladimiro Wertelecki, publicado en 1991 por la Fundación March of Dimes (143). El análisis de dermatoglifos se realizó desde individuos con anomalías cromosómicas (144-146) hasta niños con autismo (147), pasando por malformaciones congénitas como las fisuras oropalatinas (148; 148), enfermedades neurológicas (149), epilepsia en particular (150), o más recientemente, la esquizofrenia (151) o el síndrome de estrés postraumático (152).

### **Bioquímica:**

La demostración por Pauling de que la anemia de células falciformes era una enfermedad molecular (29), fue el inicio del estudio de este tipo de enfermedades.

La hemoglobina, por un lado, fue la molécula clave para entender la importancia clínica de las mutaciones, por otro, el estudio e las variantes enzimáticas de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, permitió ver la importancia de la variación mutacional a nivel individual, lo que años después daría pie a lo que se conoce como farmacogenética. Harris (153) fue uno de los pioneros en el estudio la heterogeneidad enzimática y proteica.

Los estudios de bioquímica individualizada también permitieron conocer la importancia de los polimorfismos y la variabilidad de la especie humana. El conocimiento de que los polimorfismos podían estar ligados a determinadas enfermedades, incluso ser el sustrato de la susceptibilidad genética a las enfermedades, abrió otro aspecto más en la especialización de la genética médica.

### **Diagnóstico Prenatal**

Como se ha comentado más arriba, los avances en la citogenética de células somáticas permitieron la realización del diagnóstico prenatal muy poco después de que se describieran los primeros sín-

dromes cromosómicos: Down, Patau, Edwards, Klinefelter, Turner, etc.

El método utilizado para el diagnóstico cromosómico era el de cultivo de amniocitos tras extracción del líquido amniótico mediante amniocentesis transabdominal. Los amniocitos tras dos o tres semanas de cultivo estaban disponibles para realizar un estudio citogenético. Esto hizo que a partir de 1970 hubiera un crecimiento exponencial de centros de genética que ofrecían el estudio citogenético prenatal (154). Poco después, debido a la liberalización del aborto en muchos países occidentales y a los cambios culturales referentes a la familia, a la calidad de vida y a la libertad de elección individual, la demanda de diagnóstico prenatal sobrepasó cualquier estimación (155). Actualmente es un servicio rutinario en la mayoría de los hospitales de nivel superior.

Dado que la amniocentesis se realiza entre las semanas 15-16 de embarazo y que los cultivos celulares tardan entre dos y tres semanas, para no retrasar mucho el resultado, se intentó adelantar la fecha de realización de la extracción de líquido amniótico, las llamadas amniocentesis tempranas, aunque sin mucho éxito. Por esto, se buscaron métodos alternativos que posibilitaran un diagnóstico más temprano. En 1988 comienza el análisis, tanto cromosómico como enzimático, de las vellosidades coriales (156). Este procedimiento posibilita el diagnóstico prenatal entre las semanas 8 y 12 de embarazo. Poco después, cuando se implantan las técnicas de análisis molecular, el procedimiento de la biopsia corial resultó ser el método de elección.

Previamente, se habían intentado otros métodos diagnósticos que permitieran otros tipos de análisis, como el de la cordocentesis o extracción de sangre fetal del cordón umbilical. Este procedimiento se inicia en la década de 1960, pero la extracción de sangre fetal se realizaba visualizando directamente el vaso diana mediante una fetoscopia, como así lo describieron Rodeck y Campbell en 1979 (157). Este procedimiento fue muy poco utilizado dada la tasa relativamente alta de abortos, 5 %, provocados por la fetoscopia. En 1983 Fernand Daffos y col (158) realizan la cordocentesis guiándose exclusivamente con un ecógrafo. Este procedimiento es el que se utiliza actualmente cuando es necesaria la obtención de sangre fetal o cuando el diagnóstico se realiza en un embarazo avanzado.

El descubrimiento de la estrecha relación entre los niveles de alfa-fetoproteína en el suero materno y los defectos del tubo neural en el

feto que describieron Brock y Sutcliffe en 1972 (159), por un lado, y los estudios epidemiológicos que relacionaban la mayor incidencia de alteraciones cromosómicas fetales con la edad de la madre (160), propiciaron que se establecieran unas indicaciones médicas claras para la realización del diagnóstico prenatal de forma que no solo fuera el deseo de las gestantes quien indicaran el procedimiento del diagnóstico prenatal, máxime cuando es un procedimiento invasivo con un riesgo, aunque pequeño, de provocar el aborto.

El diagnóstico prenatal permitió que las futuras madres planearan su descendencia asegurándose tener hijos sanos libres de cromosomopatías. Una consecuencia importante tras la introducción del diagnóstico prenatal fue el aumento de la demanda en las unidades de genética, haciendo que el consejo genético no solo fuera útil sino esencial.

## **DESARROLLO**

### **De los catálogos a las bases de datos**

McKusick escribe en los prólogos de las múltiples ediciones de su libro-catálogo de las enfermedades hereditarias mendelianas, que una de las razones de hacer un catálogo de enfermedades organizado por tipo de herencia, entre otras, es debido a que el consejo genético y el manejo de la herencia necesita un diagnóstico adecuado. Dado que las enfermedades genéticas son individualmente raras, muchos médicos, incluidos los genetistas, tendrán muy poca experiencia en determinadas enfermedades. Por otro lado, el pronóstico es importante para los pacientes y sus familias. Debido a la heterogeneidad genética, la clasificación de las enfermedades, pudiendo reconocer los diferentes síndromes, es importante para establecer el pronóstico y orientar en el consejo genético. Además, la facilidad que ofrece para la búsqueda, según el sistema empleado, es muy útil en el diagnóstico diferencial.

La primera edición de su libro *Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes* (161) se publicó en 1966, contenía 1.487 entradas, de las cuales 837 correspondían a rasgos o enfermedades autosómico dominantes, 531 a enfermedades autosómico recesivas y 119 ligadas al X. El formato era muy fácil de consultar ya que cada una de las

enfermedades tenía un número asignado, de tal forma que las autosómico dominantes empezaban por 1, las autosómico recesivas por 2 y las ligadas al X por 3. Además los números del catálogo, eran cifras de 6 números, se eligieron de tal forma que permitió ampliaciones sin variar el código de numeración, téngase en cuenta que este catálogo actualmente tiene más de 20.000 entradas. Cada entrada, junto con el nombre de la enfermedad y sus sinónimos, contenía una descripción breve de la enfermedad con la bibliografía clave.

La primera edición de su libro fue realizada en 1966 y las sucesivas en 1968, 1971, 1975, 1983, 1986, 1988, 1990, 1992, 1994, 1996 y 1998, año de la última edición en papel. La primera edición era un libro relativamente pequeño. McKusick casi cada 2 años fue publicando una nueva edición ya que se incrementaba sensiblemente el número de enfermedades hereditarias o de genes responsables de patología, aumento que al principio era lineal pero que en la última etapa, finales de los 90, era exponencial. A modo de ejemplo si la primera edición de 1966 contenía 1.487 entradas, la segunda de 1968 contenía 1.545, la tercera en 1971 contenía 1.876, la cuarta en 1975 contenía 2.336.

Nebert y col (162) relatan que en 1970 Victor McKusick almacenaba todos sus datos genéticos en un pequeño fichero con fichas de  $3 \times 5$  pulgadas. Los grandes avances en biología molecular acaecidos en los 80 junto con el comienzo de internet, hicieron que McKusick decidiera poner su fichero disponible de forma *online*, ya que en ese momento era inmensamente grande con más de 10.000 fichas; así comenzó el *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) (163).

Actualmente, el número del catálogo OMIM se considera un número único y universal que sirve de referencia en cualquier base de datos o texto en la que las enfermedades genéticas, sus análisis, sus protocolos, etc. se estén considerando.

### *Anatomía mórbida del genoma humano*

Victor McKusick decidió poner este nombre a la lista de las enfermedades, malformaciones y mutaciones patológicas cuyos genes habían sido mapeados —localizados— en cada uno de los cromosomas (164). Esta lista se acompañaba de un diagrama de los cromosomas

somas con los genes y enfermedades asignadas a ellos. Consistía en un atlas de los cromosomas y cada una de las enfermedades o patologías colocadas en el sitio donde el gen había sido localizado.

La visión física del genoma que tenía McKusick era muy cercana a la de un anatomista, de hecho, escribió un artículo con el siguiente título: «El genoma humano a través de los ojos de Mercator y Vesalio» (165). En este artículo McKusick establece un paralelismo entre dos personas coetáneas, nacidas en Bélgica con 2 años de diferencia y que vivieron no más lejos de 30 kilómetros el uno del otro. Mercator el cartógrafo geógrafo vivió en Lovaina y Vesalio el anatomista en Bruselas. Ambos se enfrentaron al conocimiento tradicional, simbolizado en el caso de Mercator por Ptolomeo y en el de Vesalio por Galeno.

Como Mercator, en la anatomía mórbida del genoma humano, las enfermedades o los genes patológicos están cartografiados en la imagen o ideograma de cada uno de los cromosomas bandeados, de forma que se puede saber en qué segmento del cromosoma están localizados.

Como Vesalio, utiliza el contenido de genes en cada uno de los cromosomas para hacer una descripción anatómica de ellos. Descripción anatómica que tiene diferentes visiones.

La anatomía comparada del genoma humano le permite observar cómo el contenido de genes del cromosoma X de los mamíferos es prácticamente similar y de esta forma junto con otras zonas cromosómicas, poder deducir lecciones de cómo se ha desarrollado la evolución a través de las diferentes especies. Disciplina muy activa actualmente con estudios de genómica comparada de los primates y el hombre (166).

La anatomía funcional del genoma humano le sirve para observar, entre otras, que los genes implicados en la misma vía metabólica no están unidos.

El desarrollo anatómico del genoma humano, por el contrario, muestra que algunos genes a través de su desarrollo evolutivo han terminado formando un grupo, como los genes de la hemoglobina alfa y beta.

Por último, la visión de la anatomía aplicada del genoma humano le permite vislumbrar el futuro de la terapia génica.

## *Catálogos de anomalías cromosómicas*

Paralelamente al aumento casi exponencial de entradas en el catálogo de enfermedades hereditarias, desde la descripción de los grandes síndromes cromosómicos en 1960, año tras año aparecía una gran cantidad de publicaciones con diferentes anomalías cromosómicas y su correspondiente descripción clínica. Esto hizo que se describieran nuevos síndromes cromosómicos y planteó la necesidad de tener listados o catálogos de anomalías cromosómicas que correspondieran a un síndrome clínico definido o por definir, pero facilitando una información siempre importante respecto al pronóstico y al consejo genético de los nuevos síndromes cromosómicos.

Una de las primeras recopilaciones de anomalías cromosómicas fue la realizada por Thompson en 1965 (167). Pronto surgió la necesidad de realizar un catálogo mas consolidado y estructurado, por lo que Digamber Borgaonkar en 1975 edita su libro «*Chromosomal variation in man. A catalog of chromosomal variants and anomalies*» (168). Este catálogo ha tenido 8 ediciones, la última en 1997 con 19.000 entradas o fichas de anomalías. Actualmente está disponible en internet con 24.000 entradas (169).

Otro catálogo, en formato libro, dedicado fundamentalmente a los clínicos dismorfólogos dadas sus amplias descripciones fenotípicas, incluidas fotografías, es el «*Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man*» publicado por Albert Schinzel, actualmente en su segunda edición (170).

De forma más limitada ya que sus propósitos son diferentes, merece la pena citar brevemente dos bases de datos de anomalías cromosómicas disponibles en internet: MCN y ECARUCA.

El *mendelian cytogenetics network* —MCN— es una base de datos cuyo objetivo es almacenar datos de enfermedades que están asociadas a una anomalía citogenética balanceada. Dado que las anomalías cromosómicas en balance no deberían tener una traducción patológica, salvo que la rotura de un gen o la ubicación diferente de un gen en el caso de traslocaciones pueda originar una patología, estas asociaciones servirán para mapear genes causantes de una enfermedad con mayor o menor penetrancia. Esta base de datos es de libre aportación y libre acceso. Es un recurso para la caracterización funcional del genoma humano, todo ello debido a que tanto las enfermedades como las anomalías cromosómicas pueden ser muchas pero individualmente «raras» por lo que el trabajo co-

laborativo en red puede facilitar el avance en el conocimiento de los genes responsables de estas enfermedades. Este recurso en red, facilita también la asociación genotipo-fenotipo cuando existe. Este recurso de internet que tiene catalogados más de 2.700 anomalías cromosómicas balanceadas, está coordinada por Niels Tommerup (171). Recientemente se ha integrado en un proyecto nuevo, el CRE-EX, que consiste en un re-examen sistemático de los portadores de traslocaciones recíprocas con el fin de identificar regiones candidatas de enfermedades de comienzo tardío y enfermedades comunes.

Capítulo aparte son las bases de datos de las anomalías citogenéticas del cáncer. Una de ellas contiene el mapa genómico de los puntos de rotura de los cromosomas en las anomalías citogenéticas de las células tumorales, puntos de rotura que están relacionados con multitud de tumores, empezando por los primeros estudiados que fueron los hematológicos. Esta es la *Mitelman database of chromosome aberrations and gene fusions in cancer* (172), disponible en la misma dirección genérica de la base de datos OMIM y del GenBank. Esta base de datos que contiene 58.145 casos, relaciona las diferentes aberraciones cromosómicas con diversas características tumorales.

Otra base de datos relacionada con tumores es el *Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology* coordinada por Jean-Loup Huret (173). Este atlas está dedicado a las anomalías citogenéticas y genéticas y su correlación clínica con el cáncer y las enfermedades propensas al cáncer. Este atlas, de forma concisa contiene «fichas» de tumores, anomalías cromosómicas específicas de tumores o genes relacionados con los tumores.

## **Citogenética avanzada**

Al final de la década de los 60 las técnicas de citogenética fueron mejorándose, así se observaron modos cromosoma-específico de replicación del ADN (174), se refinaron las técnicas de estudio de meiosis (175) y por último se descubrieron los métodos de bandeo cromosómico, como se ha descrito previamente.

Además de estas mejoras técnicas que permitieron el descubrimiento de nuevas patologías cromosómicas, el estudio extendido de determinados grupos de población permitió observar la alta frecuencia de algunas aberraciones cromosómicas en diferentes grupos de población tales como instituciones de retrasados mentales, abortos espontáneos

(176) y parejas con problemas de fertilidad, dando lugar al nacimiento de la citogenética de poblaciones. Esta estuvo propiciada en sus inicios por el grupo de genética del MRC de Edimburgo dirigido por Michael Court-Brown quien pensó en la necesidad de obtener información de la carga de anomalías citogenéticas en la población, algo que no se podía obtener solo por el estudio de los pacientes afectados de anomalías físicas o mentales. Esta información sería de gran interés para la interpretación correcta de las anomalías cromosómicas que se observaban en la clínica. De esta forma el grupo estudió la distribución de las aneuploidías de los cromosomas sexuales en la población adulta (177), en un hospital de alta seguridad escocés donde encontraron un «exceso» de varones XYY (178). Este dato de que un 3% de varones tenían un cariotipo 47,XYY en los hospitales penales fue confirmado por Hook (179), comenzando la historia del cromosoma Y criminal. Patricia Jacobs (180) en 1982 rememora aquellos días en que su hallazgo se extendió como una mancha de aceite en los medios de comunicación, propiciando literatura y películas acerca de esta dotación cromosómica. Hoy el cariotipo 47,XYY se conoce como una dotación cromosómica que tiene un fenotipo normal con algún problema de conducta del estilo de hiperactividad pero sin la agresividad que en principio se suponía.

Como se ha citado previamente, los estudios citogenéticos de los abortos espontáneos (181) supusieron una fuente inagotable de anomalías citogenéticas. Patricia Jacobs escribe (180), «encontré sorprendente que el 50% de los abortos espontáneos tuvieran una anomalía cromosómica. Los abortos espontáneos son un sueño para el citogenetista de poblaciones y su estudio muestra la increíble frecuencia de aberraciones cromosómicas en nuestra especie» y continúa «en mi opinión lo mejor está por llegar. No hay un hallazgo en el pasado que iguale el interés intelectual y la relevancia clínica como la reciente observación de un marcador citogenético en el cromosoma X asociado a la forma común de retraso mental ligado al X. La observación de un marcador que segrega con un gen mendeliano no tiene precedentes en ningún otro organismo». Jacobs escribía esto en 1982, años antes, en 1969 Lubs (182) había descrito un marcador en el cromosoma X, el X frágil, lo que años después se convertiría en el síndrome de X-frágil que no solo es el retraso mental más frecuente en varones sino que, cuando se describió el gen implicado (*FMR1*) y su peculiar modo de herencia con el estado de premutación, revolucionó en parte la forma de transmisión de

algunos genes mutados y la forma en que estos se mutaban mediante la expansión de un triplete de repetición (183).

Volviendo atrás, a los años 60, Mary Lyon (184) describe su hipótesis que no solo fue clave para entender el significado del corpúsculo de Barr y el comportamiento de los cromosomas X y su inactivación al azar, sino que posteriormente fue una de las piedras basales que sustentan la epigenética.

Otro de los avances acaecidos en esa época fue el análisis citogenético de los cultivos de hibridación de células somáticas identificando pérdidas de determinados cromosomas, lo que permitió una forma rudimentaria de mapeo cromosómico, de esta forma en 1967 se consiguió mapear el locus de la timidinquinasa en el cromosoma 17 (185). Un año después, se asignó al cromosoma 1 el grupo sanguíneo Duffy (186), iniciándose de esta forma el mapeo de genes previo al proyecto genoma.

La introducción de las técnicas de bandeado cromosómico supuso un avance enorme en el diagnóstico clínico. Hasta ese momento, 1971, solo diagnosticaban anomalías de número y algunas traslocaciones groseras, ahora, el poder identificar anomalías estructurales pequeñas en cada uno de los cromosomas permitió delinear nuevos síndromes cromosómicos, asociar anomalías cromosómicas específicas con determinados tumores, definir regiones polimórficas y posibilitar el mapeo genético (187).

Entre los nuevos síndromes cromosómicos cabe mencionar la trisomía 8 en mosaico (188), la trisomía 9p (189) o la delección 4p- o síndrome de Wolf-Hirschhorn (190) y la delección 5p- o síndrome de cri-du-chat (191).

Además de la leucemia mieloide crónica y el cromosoma Philadelphia o traslocación 9;22, citados anteriormente, se describieron entre otros, el retinoblastoma asociado a la delección intersticial 13q14 (192) y el linfoma de Burkitt asociado a 14q+ (193).

### *Citogenética oncológica*

A partir del descubrimiento realizado por Nowell y Hungerford del cromosoma Philadelphia en la leucemia mieloide crónica (69), se inició una carrera para estudiar citogenéticamente a diversos tumores. Evidentemente se encontraron multitud de anomalías citogenéticas que podían ser epifenómenos dentro de la progresión del

tumor. Pero, ¿todas las anomalías citogenéticas eran epifenómenos?, ya en 1966 Levan (194) hace una revisión de los descrito hasta entonces, observando que la distribución de las anomalías citogenéticas en los tumores no era al azar. Con todos los datos publicados y con los trabajos con tumores experimentales como los inducidos por el virus del sarcoma de Roux, Mitelman y col (195) deducen que hay anomalías citogenéticas que no se producen al azar y se repiten en determinados cromosomas, mientras que hay otro grupo de anomalías que afectan a todos los cromosomas por igual, este último grupo correspondería al ruido genético. Con la introducción de las bandas G, y años después las bandas de alta resolución, se pudieron identificar y caracterizar muchas aberraciones cromosómicas que ya se empezaban a ver como características e incluso específicas de determinados tumores. Las primeras anomalías asociadas a tumores fueron la monosomía 22 en el meningioma (196), la trisomía 8 en la leucemia mieloide aguda (197), el 14q+ en el linfoma de Burkitt (193) y la delección de los brazos largos del cromosoma 20 en la policitemia vera (198). Pero un hecho que revolucionó la incipiente citogenética tumoral, fue el descubrimiento de Janet Rowley en 1973 (86) sobre el cromosoma Philadelphia que se creía una delección del cromosoma 22 y en realidad era una traslocación entre el cromosoma 9 y el cromosoma 22. El advenimiento de la genética molecular en los 80 y poco después el de la citogenética molecular con su principal herramienta el FISH (véase después) revolucionó el conocimiento de la citogenética tumoral. La propia Janet Rowley considera que la citogenética molecular es la piedra Rosetta para comprender el cáncer (199).

A medida que se acumulaban las descripciones de aberraciones cromosómicas en tumores, se hacía necesario, como en las enfermedades monogénicas, un catálogo que agrupara y clarificara el conocimiento en citogenética tumoral, de esta forma Sverre Heim y Felix Mitelman publican su libro *Cancer cytogenetics. Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells* por primera vez en 1987, en 2009 se ha publicado la tercera edición (200).

### *Mutagénesis ambiental*

La historia de la mutagénesis inducida comienzan en 1927 cuando H.J. Muller (23) descubre que los rayos X pueden inducir muta-

ciones en la *Drosophila*, concretamente «los rayos X son capaces de producir reajustes en el orden lineal de genes» —por ello consigue el premio Nobel en 1945—. Este descubrimiento condujo a una rápida proliferación en el conocimiento de otros agentes mutagénicos y métodos a través de los que se probaron y se emitieron teorías nuevas en el campo de la genotoxicología. Pero fue a partir de 1938 cuando Sax publica los efectos de los rayos X sobre los cromosomas de la *Drosophila* (201) y *Tradescantia* (202) cuando realmente se consolida la mutagénesis ambiental o inducida como campo de investigación con entidad propia. Sax en 1940 (202) emitió la hipótesis de que las roturas en los cromosomas eran el prerequisite para la formación de las aberraciones cromosómicas, todo ello sin tener ningún conocimiento sobre la arquitectura molecular de los cromosomas eucarióticos. Sax también demostró el incremento lineal de las aberraciones con el aumento de la dosis de radiación. Posteriormente Catcheside y col (203) demostraron que la energía de la radiación determina el tipo y la frecuencia de las aberraciones.

Una nueva etapa en la genotoxicología surge con Auerbach y Robson a partir de 1941, con los estudios que realizaron en el gas mostaza durante la segunda guerra mundial en el Reino Unido. Ambos, descubrieron su efecto mutagénico sobre la *Drosophila*, pero por razones obvias, sus resultados no se publicaron hasta finalizada la contienda en 1946 (204). Como nota curiosa, estos estudios se iniciaron por la similitud entre las lesiones dermatológicas agudas producidas por la radiación ionizante y las inducidas por el gas mostaza.

En el caso de la irradiación, Sparrow (205) observa que hay una respuesta lineal entre la dosis, las anomalías cromosómicas y las mutaciones génicas. Inmediatamente después se observó que con cualquier agente químico existe una correlación clara entre mutaciones y anomalías cromosómicas (206).

Tras el descubrimiento del número cromosómico humano en 1956 y la descripción de un método sencillo para el estudio y obtención de los cromosomas humanos, se abrieron nuevas esperanzas en el análisis de las mutaciones inducidas o ambientales en la especie humana. Así, ya en 1960 aparecen las primeras publicaciones sobre aberraciones cromosómicas inducidas por la radiación ionizante en el hombre. Tough y col en 1960 (207) describen aberraciones cromosómicas en sangre de individuos que habían recibido cientos de rads como terapéutica con rayos X por padecer espondilitis anqui-

losante. Posteriormente, otros autores describen efectos similares en los cromosomas humanos tras haber sido inducidos por radiación ionizante ya fuera terapéutica o laboral (208-211). Siendo clásicos los numerosos estudios realizados en la población que sufrió una irradiación masiva: los supervivientes de Hiroshima y Nagasaki, análisis realizados entre otros por Awa y col en 1968 (212) y Sofuni y col en 1978 (213).

La radiación ionizante no fue el único agente mutagénico a estudiar, paralelamente Hamper y Ellison en 1961 (214) describen mutaciones cromosómicas inducidas por virus y, lo que es más importante, simultáneamente se efectúan estudios sobre los efectos mutagénicos de determinadas sustancias químicas sobre los cromosomas humanos, apareciendo la primera publicación solo un año después de la de la radiación ionizante, Conen y Lansky en 1961 (215) describen aberraciones cromosómicas en linfocitos de individuos que habían sido tratados con mostaza nitrogenada. Un año más tarde, Arrighi y col (216) describen la existencia de anomalías cromosómicas en pacientes con tratamiento citostático.

Siguiendo este camino, se examinaron desde el punto de vista mutagénico otros citostáticos o fármacos empleados entonces como antineoplásicos con resultados positivos desde el punto de vista mutagénico: citosina arabinósido (217), azatioprina y metrotexato (218), y 6-mercaptopurina (219). Muy poco después se analizan antibióticos que actúan sobre la replicación del DNA como la estreptonigrina (220) o la daunomicina (221). En el campo de los medicamentos de uso común, una de los primeros fue la fenilbutazona (222).

Muy poco después el campo de la genotoxicología se amplía, empezando a analizar grupos de personas expuestas a agentes químicos, generalmente trabajadores de la industria química. Esta etapa comienza en 1964 con los trabajos de Pollini y Colombi y el de Vigliani y col en 1964 (223;224) sobre los efectos mutagénicos-leucemógenos del benceno.

Mención aparte merecen los trabajos de mutagénesis laboral en los trabajadores del plástico, ya que el cloruro de vinilo es un potente mutágeno y carcinógeno. En 1975 Ducatman y col (225) fueron los primeros en describir estos efectos.

A finales de la década de los 60 aparecen amplias revisiones sobre mutágenos químicos (226;227) con una lista de más de 200 sustancias químicas capaces de producir mutaciones cromosómicas en humanos. Es en estos años cuando se propone el término clastógeno

para referirse a las sustancias capaces de producir las aberraciones cromosómicas principalmente roturas, derivado del griego *clastos*.

Otro hito importante en la historia de la mutagénesis inducida o genotoxicología fue el descubrimiento de que algunos agentes mutagénicos eran capaces de alterar el proceso normal de división y segregación cromosómica en las gónadas mediante su capacidad de inducir la no-disyunción en la meiosis, con la consiguiente producción de un posible desbalance cromosómico en la descendencia —trisomías o monosomías— del sujeto expuesto a la agresión mutagénica. En la década de los 60 se relacionó la acción de los agentes mutagénicos, casi siempre radiación, con los nacimientos de niños portadores de anomalías cromosómicas originadas por no-disyunciones. Los primeros trabajos de asociación se realizaron a través de estudios epidemiológicos prospectivos y retrospectivos. Uno de los primeros fue el realizado por Uchida y Curtis en 1961(228).

El análisis citogenético de las aberraciones cromosómicas en los cultivos de células somáticas se considera que es uno de los métodos principales para la evaluación de la mutagénesis inducida en los mamíferos, usándose la tasa de aberraciones cromosómicas en los cultivos de linfocitos humanos como indicador del daño genético cuando ha habido una exposición in vivo o in vitro a un agente. El éxito de las aberraciones cromosómicas como indicador de la mutagenicidad se basó en la asunción de que existe una fuerte correlación entre ellas y la producción de mutaciones puntuales (229).

Una vez establecido que las aberraciones cromosómicas podían estar inducidas por agentes genotóxicos, era fácil que se pensara en la asociación entre mutaciones cromosómicas y alteraciones de la reproducción y/o cáncer en la especie humana. Que las aberraciones cromosómicas están íntimamente relacionadas con el cáncer, encontrándose una correlación positiva entre la frecuencia de roturas cromosómicas en los linfocitos y el desarrollo del cáncer fue descrito por Hagmar y col (230). Además, se ha visto que las aneuploidías forman parte del desarrollo tumoral y también de los abortos espontáneos (231). Por ello toma importancia el estudio de aquellas sustancias que además o en lugar de ser clastogénicas, son también aneugénicas.

En la especie humana el test de linfocitos de sangre periférica es el más utilizado por ser el más sencillos y sensible para la detección de agentes mutagénicos ambientales. Este test puede realizarse in vivo o in vitro. El test in vitro se utiliza para probar los efectos de

un supuesto agente genotóxico en células humanas en cultivos cortos y de forma rápida, tiene la ventaja de poder utilizar concentraciones muy por encima de las habituales, pero la desventaja de no saber cuál pueda ser el efecto de los metabolitos. Por ello la prueba in vivo tiene la ventaja de poder observar los efectos de un agente genotóxico en un organismo vivo. La gran desventaja es que en la especie humana la mayoría de los estudios serán retrospectivos y los resultados tendrán que compararse con controles sanos y emparejados. Este tipo de estudio se utiliza para monitorizar grupos de población expuesto a algún agente mutagénico (232).

Por lo tanto, el test de detección de aberraciones cromosómicas es la prueba más extendida en humanos, ampliamente recomendada y con una metodología estandarizada para que los resultados puedan ser reproducidos (233). La ventaja de estudiar los linfocitos humanos se debe a que están circulando por todo el cuerpo y por lo tanto estarán expuestos al agente mutagénico ya sea físico o químico independientemente de cuál sea la puerta de entrada —oral, aérea, dermatológica, etc.—. En cualquier caso siempre hay que pensar que en una exposición a agentes químicos, aunque la sangre y por lo tanto los linfocitos sean la vía de transporte, no siempre será el agente en cuestión el que se transportará sino alguno de sus metabolitos o, como ocurre con el agua clorada, si la absorción se realiza a través de la piel, el compuesto clorado circulara por la sangre en mayor cantidad que si se ha ingerido, ya que en este caso habrá de pasar por el «filtro metabólico» del hígado (234).

En una sección posterior se mostrará cómo con el advenimiento de las técnicas de citogenética molecular y la descripción de una nueva técnica citogenética, la de los micronúcleos, se han conseguido unos biomarcadores con carácter predictivo respecto al cáncer.

### *Dosimetría biológica*

La primera vez que se observó la existencia de una relación entre los cromosomas dicéntricos y la dosis de radiación ionizante a la que una persona ha estado expuesta fue con los supervivientes de Hiroshima y Nagasaki. La dosimetría biológica intenta conocer la dosis exacta de radiación adsorbida por una persona mediante la estimación de la frecuencia de cromosomas dicéntricos en sus linfocitos periféricos. Para ello se siguen las técnicas habituales de ci-

togenética, analizándose más de 500 metafases (1.000-5.000) para obtener la frecuencia de dicéntricos por célula. Previamente habrá que haber validado el laboratorio y sus procedimientos mediante la construcción de una curva dosimétrica. La validación es necesaria debido a que la frecuencia extremadamente baja de dicéntricos se verá influida por los procedimientos particulares del laboratorio, pero también esta curva de correlación es diferente según la fuente de energía de la radiación ionizante. Así la curva dosimétrica con exposiciones agudas a radiaciones de LET baja, sigue una relación lineal cuadrática, mientras que las anomalías producidas por exposiciones a LET alta siguen solo una función lineal.

Se considera que la dosimetría mediante el análisis de dicéntricos es el método biológico de dosimetría más eficaz —IAEA, 1986— (235), siendo muy útil en exposiciones individuales accidentales pero, sobre todo, en grandes accidentes como los de Goiania y más recientemente Chernobil, en los que la dosimetría es necesaria para individualizar el tratamiento médico oportuno incluida la posibilidad del trasplante de médula ósea.

Una limitación del análisis de dicéntricos es que éstos son anomalías cromosómicas inestables y su permanencia depende de la vida de los linfocitos. Esto es, en 3-4 años han desaparecido la mayoría de las anomalías, por eso cuando el FISH permitió analizar más fácilmente las anomalías estables como las traslocaciones (véase más adelante el capítulo de citogenética molecular) cuya presencia es muy estable, se pensó que se podría realizar no solo una dosimetría dilatada en el tiempo sino también una dosimetría crónica acumulada.

En este tipo de análisis dado el ingente número de metafases que hay que analizar por cada individuo y el número de individuos en el caso de un accidente, la automatización es prioritaria (236).

### *Automatización*

En la práctica de la citogenética clínica, estudiar varias decenas de metafases por cada caso, analizando individualmente cada uno de los 46 cromosomas a través del microscopio, resulta ser un trabajo duro y lento por lo que se planteó desde los inicios de la citogenética asistencial, la posibilidad de automatizar alguno de los procesos del análisis citogenético, sobre todo en las dos tareas que

conllevan más tiempo: búsqueda de metafases y construcción de cariotipos.

Las primeras aproximaciones consistieron en la digitalización de las imágenes microscópicas, intentando «extraer» los cromosomas del resto de la imagen (237) para después diseñar sistemas semiautomáticos de cariotipado, esto es construir algoritmos capaces de «distinguir» cada uno de los cromosomas y así ordenarlos en un cariotipo convencional (238). Poco después, robotizando la platina del microscopio y utilizando sistemas de reconocimiento de imagen fue posible automatizar la búsqueda de metafases (239). Estos sistemas se comercializan desde el inicio de los años 90 aunque su implantación fue muy lenta debido a la necesidad de una interacción estrecha por parte del operador.

Ya en este siglo, debido a la mejora de los algoritmos y la mayor resolución de las cámaras digitales y, sobre todo, a la mayor velocidad de procesado de los ordenadores, un sistema semiautomático de cariotipado está presente en casi todos los laboratorios de citogenética. En cualquier caso, estos sistemas siguen siendo semiautomáticos o, dicho de otra forma, requieren la intervención y supervisión del citogenetista. La intervención es necesaria ya que dada la aleatoriedad de la posición de los cromosomas dentro de la metafase en una preparación microscópica, los cromosomas se arquean, se cruzan, se superponen, por lo que el operador deberá «ayudar» a la máquina a individualizarlos. Además, dada la variabilidad de tinción y grado de elongación de los cromosomas, no es infrecuente que entre 2 y 5 cromosomas sean ordenados incorrectamente. En cualquier caso este proceso es más rápido y se consigue el cariotipo en tiempo real ya que se evita el tener que fotografiar las metafases, obtener las copias fotográficas y recortar los cromosomas para montar los cariotipos. Los buscadores de metafases son especialmente útiles cuando se necesita analizar un gran número de metafases, algo que ocurre en la citogenética toxicológica (240;241).

En el caso particular del test de SCE, aunque requiere menor número de metafases, no todas están en la fase de división adecuada, por lo que las ayudas semiautomáticas también pueden ser beneficiosas, razón por la que se ha diseñado un software específico —García-Sagredo y col, 1994 (242)—.

## *Células germinales*

Uno de los problemas que siempre ha preocupado en Genética Clínica son las alteraciones de la descendencia y, entre ellas, las aneuploidías. Por eso, el estudio de las células germinales es importante.

Aproximadamente el 15% de todos los embarazos reconocidos acaban en un aborto espontáneo antes de la semana 20 de gestación. De ellos la mitad tienen una anomalía cromosómica (243), siendo la más frecuente una trisomía, seguido por la monosomía de los cromosomas sexuales y la poliploidía (244).

Si el aumento de la aneuploidía está relacionado con la edad y aquella se produce en la meiosis, cabe pensar que los agentes mutagénicos podrían estar alterando los procesos de segregación cromosómica en la meiosis de las células germinales ya que la exposición a mutágenos y/o aneugénicos aumenta con la edad.

Al evaluar una población humana desde el punto de vista de los efectos mutagénicos hay que considerar dos tipos de células, las somáticas y las germinales. Las mutaciones en éstas últimas tendrán consecuencias sobre la descendencia. En este sentido se han propuesto los siguientes test para evaluar los efectos mutagénicos en las células germinales (245): el test letal dominante, el test de locus específico, y el test de traslocación.

Obviamente es difícil el estudio de células germinales en los seres humanos. Uno de los primeros animales utilizados para el análisis de mutaciones germinales fue el ratón. Brewen y Preston (246) basándose en estudios con radiación, observaron que el nivel del daño genético inducido en células somáticas era mucho mayor que el inducido en la espermatogénesis. Cuando se irradian las células progenitoras de las espermatogonias con la misma dosis y se analiza el espermatocito, las traslocaciones recíprocas son solo un 8% (247).

Trabajar con células germinales es difícil, pero sobre todo con ovocitos, ya que es necesario un gran esfuerzo en la preparación y su número final es muy pequeño en comparación con los espermatozoides, cuya producción es continua y hay un número ilimitado de células a lo largo de la vida de los mamíferos. La metodología que desarrolló Tarkowsky en 1966 (248) se consideró durante muchos años de referencia para preparar las metafases procedentes de los ovocitos. Los cromosomas de espermatozoides se obtienen más

fácilmente, siendo de referencia el protocolo descrito por Evans y col en 1964 (249).

El análisis citogenético de los espermatozoides permite observar tanto anomalías estructurales como de número de los cromosomas lo que permite comparar el daño cromosómico entre células somáticas y germinales, observar si en algunos casos o con algunos agentes con un efecto débil puede dañar a los gametos o, dicho de otra forma, si hay etapas celulares con diferente sensibilidad a determinados agentes mutagénicos.

Teniendo en cuenta el alto índice de abortos con aneuploidías, no es de extrañar que gran parte de los estudios en células germinales se encaminen a comprobar el daño aneugénico de aquellos agentes ambientales que se sabe que, bien *in vivo* o *in vitro*, son capaces de inducir aneuploidías. Algunos son capaces de influir en las células en meiosis e interferir en la segregación de los cromosomas como los agentes antitumorales (250) o los pesticidas (251). También se ha señalado que los agentes químicos que inducen entrecruzamientos del ADN (*crosslinking*) pueden jugar algún papel en la no-disyunción cromosómica (252)

Con estos métodos, se ha observado que los hombres expuestos a agentes genotóxicos muestran elevadas frecuencias de aberraciones cromosómicas en los espermatozoides (253). Posteriormente, las técnicas de FISH, usando sondas centroméricas (véase más adelante) han supuesto un gran avance en estas técnicas ya que se puede observar fácilmente un mayor número de células —Egozcue y col (254)—, permitiendo identificar algunos factores de riesgo como la edad paterna (255), la quimioterapia o el consumo de tabaco (250).

## **Consolidación clínica**

En la década de los 70, la Genética Clínica o la Genética Médica, estaban consolidadas en la mayoría de los grandes hospitales. Los departamentos eran más o menos grandes, pero todos ellos tenían una consulta clínica en la que recibir, historiar, explorar y manejar a los pacientes, pocos tenían camas a su disposición, y todos tenían un laboratorio básico de citogenética.

En esta época, el consejo genético era el acto médico final de cualquier actuación o consulta de un paciente o de una familia afectada de alguna enfermedad relacionada con la genética.

En estas unidades o departamentos se atendían, no solamente la enfermedades hereditarias —en esos momentos la gran mayoría monogénicas—, sino que además se atendían todas las malformaciones congénitas, ya fueran de origen genético, esporádico o teratogénico. Por último, se iniciaba una demanda creciente de diagnóstico prenatal lo que también hizo surgir, como acto previo al diagnóstico prenatal, la consulta de consejo genético preconcepcional. Los servicios médicos con los que habitualmente se colaboraba y había una interacción fuerte eran Pediatría, Ginecología y Endocrinología, ya que estos eran los departamentos peticionarios o en los que estaban ingresados los enfermos.

Una fuente inesperada de pacientes fue la consulta de fertilidad. Desde el momento en que se conoció que una gran cantidad de abortos espontáneos estaban causados por anomalías cromosómicas y, aun más, que entre un 10 y un 15% de las parejas infértiles tenían una anomalía cromosómica, generalmente balanceada, se hizo rutinario el examen citogenético de las parejas estériles o con más de dos abortos. Dado que cuando se diagnostica una pareja con un problema citogenético hay que explicar las posibles consecuencias de futuros embarazos y orientarles en el manejo de sus opciones reproductivas, el consejo genético preconcepcional empezó a ser rutina en los servicios de genética, incluso con la creación de consultas especializadas.

Con respecto al diagnóstico prenatal, el descubrimiento de que la alfa-fetoproteína estaba aumentada en los fetos que tenían espina bífida y anencefalia (159) introdujo una indicación importante para realizar la amniocentesis además de la edad materna. A modo de ejemplo, gracias al cribado de alfa-fetoproteína implantado en Gran Bretaña, donde las anomalías de cierre del tubo neural eran más prevalentes en Escocia y Gales, se consiguió reducir del 5/1.000 en 1975 a 1,7/1.000 en 1981 en Escocia (256).

Poco después Merkatz y col observaron una disminución de los niveles de alfa-fetoproteína en el suero materno en los embarazos cuyo feto tenía el síndrome de Down (257), iniciándose de esta forma lo que poco después sería un sistema de cribado prenatal que intentaba mejorar las indicaciones de diagnóstico prenatal cromosómico en las gestantes. A este se unieron otros parámetros bioquímicos tales como la gonadotropina coriónica beta y el estradiol que, junto con marcadores ecográficos como la translucencia nuchal, permitieron que se detectaran prenatalmente el 60% de los síndromes de Down.

Es en esta década de los 70 cuando los hematólogos empiezan a necesitar el estudio citogenético de las leucemias. Dependiendo de los hospitales, es el servicio de genética el que precisa ampliarse en su sección de citogenética para dar una respuesta a esta demanda creciente, o es el propio servicio de hematología el que impulsa la creación de una unidad de citogenética que le suministre el servicio de laboratorio requerido.

Al final de la década de los 70, el laboratorio de citogenética tiene tres fuentes de análisis casi con la misma carga de trabajo: citogenética postnatal, citogenética prenatal y citogenética de hemopatías malignas.

### **Consejo genético**

El primer centro dedicado al consejo genético en Norteamérica fue sin duda el «*Eugenics Record Office*», fundado por Davenport en 1915. No es hasta 1940 cuando se crea una «*Heredity Clinic*» en la Universidad de Michigan y el «*Dight Institute of Human Genetics*» en la Universidad de Minnesota.

El término consejo genético fue introducido en 1945 por Sheldon Reed, al que no le gustaba el término «higiene genética» según escribe Clarke Fraser (258), quien continúa escribiendo que en 1955 ya era posible hacer un listado de 13 centros que hacían consejo genético en Norteamérica.

Que entre 1950 y 1960 el consejo genético se hiciera popular dependió de tres hechos: El mayor y mejor control de las enfermedades no genéticas, el aumento de enfermedades genéticas descritas y la estimación de riesgos de recurrencia en enfermedades multifactoriales o poligénicas. El primer listado conocido de enfermedades genéticas y sus riesgos de recurrencia contenía unas 170 entradas, de las que 110 eran mendelianas (259). Poco después McKusick publica su catálogo de enfermedades mendelianas que ha pervivido hasta hoy (véase la sección previa de bases de datos).

El consejo genético es algo más que estimar un riesgo de recurrencia, antes que nada, requiere un diagnóstico exacto, pero también precisa una apreciación de la situación de una familia en particular, su entorno socioeconómico y la carga emocional que representa la enfermedad en cuestión para la familia. En el consejo genético se debe de incluir la información del tratamiento en el

caso de las enfermedades metabólicas o de las opciones reproductivas en el caso de una enfermedad hereditaria, siempre de forma rigurosamente imparcial y facilitando, posteriormente, las opciones que el paciente o la familia hayan decidido de forma libre. Por último es necesaria una habilidad especial para comunicar la información.

La genética clínica tiene un gran papel en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades hereditarias a través del consejo genético. En el consejo genético hay tres aspectos dignos de destacar: El traslacional, el preventivo y el predictivo.

Las enfermedades genéticas implican muchos aspectos fundamentales de la biología, el genetista se ve atraído por la genética no solo por el campo genético en sí, sino porque está familiarizado con todas las especialidades de la medicina clínica y todas las ramas de la ciencia básica, esto es lo que hoy en día se denomina medicina traslacional.

Otro aspecto que desde el principio fue destacado en la práctica de la genética clínica fue el relacionado con la medicina preventiva lo que de alguna forma se hacía con el seguimiento a largo plazo de las familias de afectados. De esta forma, es en las familias en las que se transmite una mutación dominante de una enfermedad con penetrancia reducida y expresividad variable donde el seguimiento familiar identificando individuos en riesgo y realizando exámenes o exploraciones programadas donde el beneficio es mayor. De esta forma, en enfermedades puramente genéticas como el síndrome de Marfan o la esclerosis tuberosa, el consejo genético servirá para detectar a personas con la expresión mínima de la enfermedad pero capaces de transmitirla.

Otro aspecto es el del cáncer hereditario, en el que el consejo genético no solo cumple las funciones anteriores, sino que además tiene una función predictiva ya que muchas veces se realiza en individuos sanos. Esta es la razón por la que siempre debe de haber un consejo genético previo a la realización de cualquier prueba genética con carácter predictivo ya que en multitud de situaciones la información que se va a transmitir puede tener una carga muy grande sobre una patología futura en comparación con la oferta casi insignificante del arsenal terapéutico disponible para evitar la situación predicha.

Dependiendo del sujeto receptor y de la situación a considerar, hay cuatro clases de consejo genético: Consejo genético postnatal,

preconcepcional, prenatal y predictivo. En el consejo genético posnatal se hace el diagnóstico, se establece el pronóstico y las opciones terapéuticas, se calcula el riesgo de transmisión de la enfermedad y se identifican los familiares que pueden estar en riesgo. En el consejo genético preconcepcional, tras un estudio exhaustivo del árbol genealógico identificando las posibles patologías hereditarias en la familia, se establecen los riesgos y se explican las opciones reproductivas para manejar esos riesgos; en el consejo preconcepcional está incluido el que se realiza en las parejas consanguíneas. El consejo genético prenatal concierne a cualquier enfermedad que pueda ser diagnosticada prenatalmente, incluido el diagnóstico de preimplantación. El consejo genético predictivo es el que se realiza en enfermedades hereditarias de comienzo tardío como el corea de Huntington o el cáncer hereditario; es el más problemático dado que se hace sobre individuos sanos.

### **Nosología y taxonomía genéticas**

En esta época, sin un conocimiento extenso de los genes implicados en enfermedades genéticas, al igual que en la tabla periódica de los elementos en los que se infería la existencia de algunos elementos desconocidos, en la genética, a través de la taxonomía se deducía la existencia de algunos genes que estarían por descubrir.

Fue precisamente McKusick (260) quien utilizó el método taxonómico para clasificar y ampliar el conocimiento en las enfermedades del tejido conectivo y las mucopolisacaridosis, como puede observarse a través de las sucesivas ediciones de su libro.

La nosología genética significa la delineación de una enfermedad genética determinada; también puede significar la clasificación de las entidades en una taxonomía jerarquizada buscando los orígenes de las enfermedades y su conducta.

No obstante es difícil realizar una taxonomía antes de conocer la causa básica de la enfermedad. Hubo que esperar al desarrollo de la genética molecular para completar la nosología y la taxonomía de las enfermedades y los genes causantes de ellas.

## EXPLOSIÓN

### La etapa molecular

#### *Proyecto genoma*

La palabra genoma fue acuñada por Winkler en 1920 y proviene de la fusión de dos palabras, **GEN**es y cromos**OMA**s. Por lo tanto genoma significa el conjunto completo de los cromosomas y los genes que éstos contienen.

El Proyecto Genoma Humano fue una iniciativa internacional de investigación con el propósito de construir un mapa genético y físico detallado de cada uno de los 24 diferentes cromosomas humanos con un coste razonable, determinando la secuencia de los tres mil millones de nucleótidos que conforman el ADN humano. Se pensó que el tiempo razonable para concluir el proyecto sería de 15 años y el coste se estimó en 200 millones de dólares por año, o 3.000 millones de dólares en total.

En los Estados Unidos, el proyecto estuvo dirigido por dos agencias gubernamentales, los Institutos Nacionales de la Salud (*NIH*) y el Departamento de Energía (*DOE*). El interés de los *NIH* está claro ya que es una fundación para la investigación en genética humana y biología. La participación del *DOE* viene de lejos, ya que este organismo estaba implicado en un gran proyecto de investigación sobre genética para mejorar la capacidad de evaluación de los efectos de la radiación y de los agentes químicos relacionados con la energía y la salud humana. La colaboración de estas dos agencias quedó firmada en una memoria que delineaba los planes de cooperación en la investigación del genoma. Este documento se firmó el 1 de Octubre de 1988.

El proyecto genoma empezó oficialmente el 1 de octubre de 1990 con James Watson como el primer director del programa en los Institutos Nacionales de la Salud de los Estados Unidos. Posteriormente, Francis Collins asume la dirección el 1 de enero de 1993. Como la tecnología disponible cuando se diseñó el proyecto no era muy eficiente, se recomendó seguir la estrategia de «mapear primero, secuenciar después».

En 1995 el grupo de Craig Venter (261) publica la primera secuencia completa del genoma de un ser vivo, *Haemophilus Influenzae*. Este grupo, en vez de utilizar el método propuesto para el genoma humano, lo que hicieron fue trocear el genoma de la bacteria,

secuenciar los trozos individualmente y luego reconstruir la secuencia de las piezas utilizando un algoritmo que reconocía los bordes solapados. Este método se utilizó con éxito para estudiar el genoma de otros organismos como la *Drosophila* y, finalmente, fue utilizado para completar el estudio del genoma humano.

El proyecto genoma humano ha supuesto un antes y un después en la Medicina. En realidad el Proyecto Genoma Humano es el éxito de un fracaso. Este proyecto se diseñó y se dotó para leer todo el código genético en un plazo determinado de tiempo, conocer los genes, conocer cuáles son las enfermedades genéticas y conseguir una terapia adecuada de estas enfermedades genéticas, ya sea una terapia génica, ya sea una terapia genética. Pues bien, casi todo esto fracasó, se acabó el proyecto genoma humano sin ser capaz de haber «leído» todo el genoma de forma continua, sino que por mor de la rapidez se trocó y se leyeron piezas sueltas, lo que supuso que se repitieran secuencias que estaban solapadas y que quedarán algunas zonas sin leer. Esto supuso que no se conociera el número de genes de la especie humana y aún hoy seguimos sin conocer el número exacto de genes. Tampoco fue capaz de identificar toda la patología o todas las enfermedades que estuvieran directamente relacionadas con las alteraciones de estos genes y, menos aun, facilitar la instauración de una terapia genética. Este ha sido uno de los mayores «fracasos» ya que, con excepciones, aun se sigue con la moratoria de esta terapia al no ser capaces de controlar todos los efectos consecuencia de la introducción de un gen en un organismo vivo y complejo como es el hombre.

Por el contrario, el Proyecto Genoma Humano ha tenido un gran éxito que se ha traducido en ese antes y después en la Medicina. Sirva de ejemplo el desarrollo ingente de todas las técnicas y todas las tecnologías de la biología molecular que se aplican no solamente en los laboratorios de genética molecular sino en los laboratorios de otras especialidades médicas en las que los procesos moleculares son cruciales. En estos momentos la Medicina tiene una potencialidad absolutamente inimaginable hace pocos años, esto hace que se pueda estar hablando de la medicina molecular, no solo relacionada con los aspectos genéticos, sino con la biología molecular o la patología molecular en un sentido amplio del término.

Todo esto se ha trasladado al lenguaje científico empleando el término, o más bien el sufijo, ómico. Estamos en la era de la medicina ómica: genómica, proteómica, reactómica, exómica, etc.

La revolución de la denominada medicina molecular consiste en que el conocimiento de los genes y de los procesos patogénicos en los que intervienen los genes de prevalencia de una gran cantidad de enfermedades comunes, ha permitido el avance, más que en la etiología, en el conocimiento profundo de la etiopatogenia de la enfermedad con lo que es más fácil establecer o intuir cuales son las posibles vías terapéuticas. Además, conociendo cuales pueden ser los genes que intervienen en la etiopatogenia de una enfermedad se pueden conseguir unas dianas terapéuticas que permitan tratamientos más eficaces, con menos efectos adversos y personalizados.

El aspecto revolucionario que supuso el conocimiento del genoma humano tiene que ver con la forma de entender la medicina moderna, como es la capacidad de análisis predictivo lo que le da a la medicina ese enfoque preventivo que es el lado que se está desarrollando de forma intensiva en el siglo XXI, como se verá más adelante.

En este sentido, conviene resaltar aquí un aspecto importante en muchas enfermedades comunes del adulto. Estas enfermedades que los genetistas denominamos multifactoriales porque no siendo mendelianas tienen o pueden tener una acumulación familiar, tienen dos tipos de factores desde el punto de vista patogénico y preventivo: factores controlables y factores incontrolables. Los factores controlables son aquellos en los que el médico puede influir y por lo tanto mejorar la enfermedad o evitar su aparición previniéndola, estos factores controlables, que ya se conocían, son dependientes de hábitos o estilos de vida, como la dieta, el ejercicio, la obesidad, el tabaquismo, etc. El otro gran grupo de factores son los incontrolables, son aquellos que el médico no puede modificar pero están influyendo en la aparición o en el curso de la enfermedad, estos factores son la edad, el género y los genes, la dotación genómica de un individuo. Aunque estos factores son incontrolables, en el caso de los genes, pueden estar dando pistas sobre la enfermedad. Aquí sí que el proyecto genoma primero y sus «sucesores» después, pueden ayudar a establecer medidas preventivas, identificando individuos o grupos de población en riesgo que serán las dianas para establecer o fortalecer las medidas preventivas que se consideren adecuadas y, una vez establecida la enfermedad, tener una orientación terapéutica de cuáles serían los fármacos de elección y cual su posología, posibilitando el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

## Diagnóstico génico

A medida que avanzaba el proyecto genoma humano, se descubrían nuevos genes cuyas mutaciones eran responsables de patologías y se describían nuevas tecnologías para llevar a buen fin el diagnóstico génico, un dilema, que ya venía de atrás, se hizo más patente: la heterogeneidad en sus dos facetas, la heterogeneidad clínica y la heterogeneidad genética.

Al poco de iniciarse de forma masiva los estudios de biología molecular, uno de los conceptos que se vieron sobrepasados fue el constatar que una enfermedad monogénica no era similar a una «enfermedad alélica». El primer ejemplo fue el de la fenilcetonuria, una enfermedad conocida de herencia autosómico recesiva y causada por el déficit de fenilalanina-hidroxilasa. Se clonó el gen *PAH* en 1983 por Woo y col (262). Cuando Marvit y col (263) describen la mutación, la fenilcetonuria era una enfermedad alélica, pero, poco después se describió una segunda mutación, y posteriormente se han descrito más mutaciones en el mismo gen con una correlación genotipo-fenotipo. En estos momentos, en la base de datos de la fenilcetonuria hay registradas más de 500 mutaciones. Lo mismo ha ocurrido con el gen de la fibrosis quística, *CTFR*, del que hay registradas más de 1.000 variantes alélicas.

Como dice Maurice Godfrey (264), la heterogeneidad, con sus primos, la pleiotropía y la variabilidad, suministran el marco tanto para la comprensión como para la confusión en la genética médica. Por ejemplo, los defectos en los genes del colágeno tipo 1 (*COL1A1* y *COL2A2*) producen diversos fenotipos o diversas enfermedades que van desde la forma letal de la osteogénesis imperfecta hasta las formas más leves de Ehlers-Danlos. En algunas enfermedades la heterogeneidad ha chocado con la nomenclatura planteando problemas de clasificación, como es el caso de los síndromes de Stickler y de Wagner que unas veces se clasifican de forma separada y otras juntos. De esta forma se llegó a plantear en la década de los 90 un serio problema sobre la terminología de determinadas enfermedades y su clasificación, ¿cómo hacerlo? ¿en base a su clínica o en base a su patología molecular? Ninguna decisión fue satisfactoria, de forma que se han usado los dos tipos de clasificaciones y nomenclaturas, no obstante muchas veces ha predominado la clasificación clínica, aunque solo sea por haberse empleado desde hacía más tiempo, pero reclasificando en diferentes subtipos. Actualmente, por continuar con el mismo ejemplo,

hay 4 tipos de osteogénesis imperfecta y 11 tipos de Ehlers-Danlos. Como dice Godfrey, la caja de Pandora sigue abierta.

### **El ave fénix: ocaso de la citogenética y resurgimiento de la citogenética molecular**

A diferencia de los que ocurre con los cromosomas politénicos de la mosca de la fruta en los que se pueden mapear los genes utilizando el microscopio, en los humanos a lo más que puede llegar la citogenética es a correlacionar pequeñas duplicaciones o deleciones con cuadros fenotípicos específicos. En aquellos momentos, finales de los 80 y comienzo de los 90, la genética molecular y el análisis génico estaban sustituyendo o relegando al análisis citogenético. Pero fue precisamente el empleo de las técnicas moleculares lo que hizo resurgir, cual ave fénix, la citogenética. Esta fue la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH, *fluorescent in situ hybridization*).

#### *FISH*

Los primeros pasos se dieron hibridando secuencias de ADN etiquetadas radioactivamente sobre cromosomas metafásicos. Esta técnica se utilizó primero para mapear en los cromosomas secuencias únicas de ADN que habían sido clonadas en plásmidos. Poco después, con la introducción de los anticuerpos marcados con moléculas fluorescentes que eran capaces de reconocer híbridos específicos ADN-ARN se realizaron las primeras técnicas directas de FISH junto con las indirectas que se referían a la detección inmunológica de marcadores que se habían incorporado a una sonda de ADN (265). Posteriormente, en la técnica de FISH, como hoy se utiliza, se usa un marcaje directo, esto es, la unión de un fluorocromo a una sonda de ADN (266).

Utilizando sondas de ADN es posible marcar zonas específicas de ADN tanto en células en metafase como en núcleos celulares en interfase de forma que las regiones marcadas se pueden visualizar con la ayuda de microscopios ópticos —Lichter y col. 1988 (267)—. Esto permite la identificación de células genéticamente aberrantes, información esencial en campos como el diagnóstico prenatal, la oncología y la toxicología genética —Cremer y col. 1990 (268)—. Este hecho hizo que rápidamente se implantase y se generalizase su uso

en citogenética humana, no como alternativa a la citogenética clásica o convencional, sino para profundizar en el análisis citogenético. De esta forma permitió la definición de cromosomas marcadores en la citogenética del cáncer o la delineación e identificación de los síndromes de microdelección y microduplicación, hoy conocidos como síndromes de genes contiguos.

Muchos de estos síndromes se conocían antes de la etapa citogenética, son síndromes clásicos como los de Prader-Willi, Angelman, Langer-Giedion, Miller-Dieker o Smith-Magenis. Unos son hereditarios, los menos, la mayoría esporádicos. Gracias a la citogenética molecular y su mayor resolución, se observó que muchos de ellos estaban originados por una pequeña delección de una zona cromosómica que implicaba a varios genes, de ahí el nombre actual de síndromes de genes contiguos. Si antes el diagnóstico se hacía mediante el reconocimiento del fenotipo, *gestalt*, ahora se puede realizar mediante un análisis citogenético utilizando sondas de ADN marcadas con un fluorocromo. Estas sondas se diseñaron de forma que hibridaran con la zona que habitualmente se delecionaba o duplicaba, de esta forma un simple estudio citogenético era capaz de diagnosticar definitivamente estos síndromes.

En el caso de la mutagénesis ambiental, puede ser muy útil la detección de traslocaciones que tienen otro sentido porque son alteraciones cromosómicas estables y porque existe una asociación clara entre traslocaciones cromosómicas y cáncer —Mitelman, 2000 (269)—. Virtualmente todos los tumores contienen reajustes cromosómicos y hay una relación entre el número y tipo de reajustes y el pronóstico clínico.

La técnica de FISH supuso un avance espectacular y una revolución en la forma de entender la citogenética. Este procedimiento que permitía ver lo que físicamente era imposible con el microscopio óptico, llegaba a tener una resolución de un tamaño tan pequeño como el de un gen. Por supuesto que no podía llegar a la resolución de la genética molecular, un nucleótido, pero tenía la ventaja de que la observación se podía hacer sobre estructuras biológicas conservadas, a diferencia de los métodos puramente moleculares que se realizan sobre ADN extraído de un tejido. Esto permitía analizar las diferencias genómicas entre células cercanas como es el caso de los tumores.

La otra gran revolución fue la de poder situar o localizar trozos genómicos en el núcleo sin necesidad de observarlo sobre cromosomas

metafásicos, una limitación importante, también en el caso de los tumores, ya que solo los cromosomas metafásicos se obtenían durante la división celular y no todas las células se dividían o, mejor, algunas células aberrantes no podían dividirse y limitaba la capacidad de análisis de la totalidad de la alteración genética en un tejido.

Con esta técnica de FISH, no importaba que el cromosoma estuviera desespirilizado en el núcleo de una célula en reposo, sus secuencias ahí estaban y por lo tanto podían localizarse. Llegar a esto supuso una revolución en algunos métodos de análisis o amplió hasta formas insospechadas tal análisis:

- Citogenética de interfase: diagnóstico prenatal, enfermedad mínima residual
- Traslocaciones cromosómicas: genes de fusión, marcadores tumorales
- Territorios cromosómicos: genes activos, inactivación cromosómica
- Mapeo de genes y localización exacta
- CGH: perfil de los tumores
- Arrays

Ahora ya se podía decir que se habían borrado las fronteras entre la citogenética y la genética molecular (270). En cualquier caso todas las técnicas derivadas del FISH deberían de estar disponibles ya que es muy difícil realizar un estudio en profundidad sin aplicar una combinación de estas técnicas o siguiendo una estrategia marcada de utilización.

Seguidamente se hace una explicación detallada de algunas de estas técnicas o aproximaciones conceptuales.

### *Pintado cromosómico*

Si era posible marcar con una molécula fluorescente una zona determinada dentro de un cromosoma, utilizando un gran número de sondas de forma que cubrieran la casi totalidad de un cromosoma —librería de sondas— se podría «pintar» ese cromosoma. Pero al intentar pintar un cromosoma entero apareció el problema de que las secuencias repetitivas SINEs (*small interspersed repetitive elements*) y LINEs (*large interspersed repetitive elements*), se encontraban mezcladas con las secuencias únicas. Al realizar la hibridación

in situ estándar con una librería de sondas, las correspondientes a SINEs y LINEs producen una hibridación inespecífica que marca secuencias en casi todos los cromosomas en vez de únicamente en el cromosoma requerido. Este problema se solucionó —Pinkel y col. 1988 (271)— prehibridando las sondas de los cromosomas con DNA genómico total no marcado o utilizando DNA Cot1.

De esta forma se consiguió pintar uno o varios cromosomas en diferentes colores, facilitando el análisis de traslocaciones, ya que muchas veces los cromosomas resultantes de una traslocación, sobre todo si están implicados más de dos cromosomas, son difíciles de identificar. Ahora con el pintado de varios cromosomas en diferentes colores es fácil observar la existencia de una traslocación.

Por último, si era fácil pintar 2 o 3 cromosomas, ¿por qué no intentarlo con todos? Había una limitación física y otra biológica. La física tenía que ver con el número de fluorocromos válidos para el marcaje de las sondas. Estos no pasaban de 5 correspondientes a no más de 4 colores. La limitación biológica tenía que ver con la incapacidad del ojo humano para diferenciar tantos colores como 23. La solución vino a través de los avances que se habían realizado en la automatización del análisis citogenético, concretamente con el perfeccionamiento de las cámaras de video que eran más sensibles junto con el hecho de que cada fluorocromo emitía luz en una longitud de onda específica que se observaba o se registraba con una cámara utilizando un filtro adecuado para esa longitud de onda. Por lo tanto ya no era necesario tener cámaras de color ni discriminar entre 23 colores, sencillamente, «pintando» los cromosomas con diferentes mezclas de fluorocromos y registrando sus emisiones, utilizando técnicas combinatorias o análisis de espectro, era posible pintar los 23 pares de cromosomas, cada uno con un color diferente, y construir un cariotipo en el que se observaban fácilmente cualquier anomalía estructural, principalmente traslocaciones, la técnica ideal para los análisis citogenéticos de los tumores. A esta técnica de citogenética molecular multicolor se le denominó de diferentes maneras según la técnica específica empleada: SKY o multfish (272).

### *FISH en mutagénesis ambiental*

En el caso particular de la detección de aberraciones cromosómicas inducidas por genotóxicos ambientales, con la técnica de

FISH la detección de traslocaciones cromosómicas se realiza con mayor facilidad que con las técnicas convencionales lo que ofrece enormes ventajas a la hora de cuantificar los efectos de radiaciones y otros agentes en poblaciones.

Las traslocaciones balanceadas son anomalías estables, lo que hace que puedan sobrevivir a la célula y persistir en las siguientes generaciones celulares. Este fue el hito que marca la posibilidad de observar efectos mucho tiempo después de producirse. Los estudios realizados en el accidente de Goiania en Brasil, con Cesio137, permitían ver la desaparición progresiva de las anomalías inestables, en contra de la persistencia de las traslocaciones observadas mediante las técnicas de FISH (273).

Si con esta técnica se pueden detectar anomalías inducidas por agentes mutagénicos/carcinogénicos que no van a desaparecer nunca, parece posible analizar efectos crónicos ya que se dispone de unas técnicas capaces de detectar los efectos acumulados de cualquier agente genotóxico, por lo tanto se podría analizar la historia mutagénica del individuo (274).

Son muchas las publicaciones sobre traslocaciones inducidas, detectadas con la técnica de FISH, pero no está estandarizado el método en el sentido de que cada autor utiliza diferentes librerías de sondas, por ello nosotros diseñamos un experimento para comprobar que la producción de traslocaciones era similar e independiente del tipo de librerías cromosómicas utilizadas (275).

El estudio de traslocaciones espontáneas ha permitido observar que el daño citogenético en humanos se acumula con la edad (276), lo que es presumible teniendo en cuenta la acción diaria de agentes tales como oxidantes, agentes químicos en el ambiente, radiación solar y terrestre, ocupación laboral y consumo de tabaco. Aparte de poder utilizar este método como marcador biológico de efecto temprano para el cáncer (véase más adelante), sugiere que los estudios de genotoxicidad en poblaciones expuestas a agentes genotóxicos han de diseñarse cuidadosamente debido a la gran cantidad de factores de confusión potencialmente presentes.

La oportunidad adicional de poder conocer cuáles son los cromosomas que se ganan o se pierden de una forma rápida con las técnicas de FISH, abre unas posibilidades inmensas en los estudios mutagénicos. El primero en utilizar estas técnicas de detección de anomalías numéricas en mutagénesis fue Pinkel y col. (277). Este análisis se basa en contar el número de regiones etiquetadas o pun-

tos fluorescentes que representan a un cromosoma particular dentro del núcleo en interfase, de esta forma, utilizando sondas centroméricas se puede analizar las aneuploidías originadas por agentes mutagénicos. Hagmar y Bonassi ya vieron la potencialidad de esta técnica como marcador de riesgo de cáncer (278;279).

### *Interfase*

Con la citogenética de interfase, los cromosomas o las regiones submicroscópicas elegidas, se pueden visualizar dentro del núcleo en una célula en reposo. Esto permite el análisis del genoma de una determinada célula en un contexto más habitual que el de las células en metafase, lo que permite el estudio de la organización tridimensional del genoma, pero sobre todo, teniendo en cuenta que son más numerosas las células en reposo que las que están en división, permite analizar más rápidamente a un mayor número de células buscando alteraciones cromosómicas o genómicas.

Dado que las secuencias cromosómicas están en el núcleo en interfase, es posible aplicar todos y cada uno de los procedimientos de la técnica de FISH. El único aspecto a tener en cuenta es el de que la cromatina esta descondensada lo que es una ventaja ya que permite el que se pueden emplear sondas que estén más cercanas entre sí, entre 50 kb y 2 Mb, en comparación con el cromosoma metafásico en el que la distancia más cercana distinguible esta alrededor de 5 Mb (280).

El análisis citogenético de células en interfase es útil en los casos en que no se pueden conseguir extensiones microscópicas de metafases, como en anatomía patológica en los estudios de cortes de tumores de mama para detectar amplificaciones *HER-2*, otro ejemplo, siguiendo con la citogenética oncológica, el análisis de tejidos conservados evita los posibles artefactos que podrían surgir tras el cultivo *in vitro* de células del mismo tumor. El estudio de interfase también es útil cuando las células a estudiar son raras como es el caso de la enfermedad mínima residual en oncohematología, o el de las micrometástasis, también es útil usando sondas centroméricas para identificar la inestabilidad cromosómica de las células tumorales.

Pero no solo es valioso en oncocitogenética, sino también en el diagnóstico prenatal, aquí las anomalías más frecuentes son las

numéricas, trisomías o monosomías, es más, algunas veces los indicadores de riesgo para una trisomía 21 pueden ser suficientemente altos como para que no sea deseable que la embarazada esté esperando angustiosamente durante las dos semanas de cultivo de amniocitos para conocer el resultado cromosómico. En este caso un análisis con sondas centroméricas de los 5 cromosomas que habitualmente producen trisomías o monosomías, los cromosomas 13, 18, 21, X e Y, permite hacer el estudio de aneuploidías en los amniocitos tras una amniocentesis en tan solo 24 horas.

### *Territorios cromosómicos*

La organización de la cromatina y sus modificaciones epigenéticas (véase más adelante) dentro del núcleo en interfase, tienen una importancia fundamental en procesos tales como la transcripción, la recombinación, la replicación y la reparación del ADN. Con técnicas de FISH, utilizando las sondas pertinentes, puede observarse cuál es la distribución espacial de cada uno de los cromosomas dentro del núcleo, distribución que no siempre es la misma dependiendo del tipo de célula o del estado de diferenciación de ésta, esto es, la distribución espacial de los cromosomas tiene un patrón definido fundamentalmente por cuál o cuáles son los genes activos en un momento determinado, lo que coincide con la especialización de las células. Los estudios de Cremer y su grupo (281) han conseguido construir toda una teoría de la distribución funcional de los territorios cromosómicos y reconocer que muchas de las traslocaciones que se observan en la especie humana, incluidas aquellas que son específicas de determinados tumores, no se han producido al azar sino por contigüidad espacial, o dicho de otra forma, las traslocaciones se producen entre cromosomas contiguos, confirmando la teoría de Boveri descrita 100 años antes (82).

Aunque hay bastante discusión sobre cuál sea el significado de la disposición territorial de los cromosomas dentro del núcleo, sí parece claro que las regiones «abiertas» de cromatina corresponden con zonas de alta densidad de genes, aunque no necesariamente referido a alta expresión génica.

El estudio de la denominada distribución del genoma en tres dimensiones ha sido posible gracias a los logros de la tecnología, en este caso fundamentalmente gracias al microscopio confocal laser

y los algoritmos de deconvolución. Muchos de los trabajos de Thomas Cremer han sido posibles con la colaboración estrecha de su grupo con el grupo de su hermano, Christoph Cremer, un ingeniero físico (282). De esta forma con esta sofisticada tecnología se han podido analizar células vivas y observar en ellas como se disponen determinados genes cercanos a los espacios o canalículos intranucleares, facilitando, de esta forma, la salida del ARN al citoplasma. Esta arquitectura espacial de los territorios cromosómicos y los territorios intercromosómicos es dinámica, de forma que cuando a lo largo de la vida de una célula, un gen está activo, se descondensa y se coloca cercano al espacio intercromosómico, eso sí, casi siempre en las zonas centrales del núcleo y nunca o casi nunca en la periferia del núcleo donde suelen estar la heterocromatina y los genes silenciados (281).

### *Telómeros*

A finales de los 90 y principio del siglo XXI, los telómeros han alcanzado una importancia enorme en dos aspectos. Los telómeros propiamente dichos y su función en la estabilidad de los cromosomas por un lado y en la capacidad de regular la división celular por otro lado. Sin olvidar a las regiones subteloméricas, ya que sus alteraciones son importantes en relación con la patología postnatal y del desarrollo.

Tradicionalmente, los telómeros habían pasado casi desapercibidos en la citogenética clínica, ya que el final de los cromosomas se tiñe de forma clara y sus bordes no están bien definidos. Esto hacía que no se diera importancia a pequeñas variaciones en el tamaño de las zonas teloméricas, achacándose estas variaciones al grado de condensación del cromosoma. Con el advenimiento de la tecnología FISH, se observó que las zonas teloméricas estaban compuestas por secuencias de ADN repetitivo, incluso se observaron zonas en las que la secuencia repetitiva era similar para todos los telómeros, mientras que otras zonas tenían repeticiones específicas para cada cromosoma e incluso para cada uno de los brazos cromosómicos. Esto hizo que se pudieran diseñar sondas de ADN etiquetadas con fluorocromos para FISH que bien marcaban todos los telómeros a la vez o específicamente cada uno de ellos. De esta forma, utilizando una sonda pantelomérica se podía observar en una

sola metafase si todos y cada uno de los cromosomas tenían los telómeros intactos y en las zonas terminales de los cromosomas, de otra forma indicaría que o bien se habían perdido (pequeña delección) o se encontraban en una zona intermedia del cromosoma indicando la existencia de traslocaciones pequeñas o crípticas.

El estudio detallado de las regiones subteloméricas se ha incrementado considerablemente en los últimos años debido a que se ha detectado en esa zona terminal de los cromosomas la presencia de un número considerable de pequeñas aberraciones cromosómicas indetectables con las herramientas citogenéticas convencionales. Estas aberraciones, principalmente delecciones, pero también duplicaciones, se han relacionado con retraso mental y/o malformaciones congénitas.

La detección de estas pequeñas aberraciones cromosómicas, cuyos tamaños lindan con el límite de resolución del microscopio óptico, que fue posible por la disponibilidad de sondas fluorescentes teloméricas, actualmente, gracias a las técnicas de MLPA y aun mejor de microarray de CGH han facilitado el estudio etiológico de los trastornos de aprendizaje con malformaciones que se quedaban sin diagnosticar, aproximadamente entre un 3-6 % de los retrasos mentales con malformaciones considerados idiopáticos (283), pero también han posibilitado el conocimiento de que la especie humana es tolerante a lo que hoy se denomina variación en el número de copias, lo que dificulta enormemente la interpretación de los resultados obtenidos con tecnologías cuya resolución es muy alta (véase más adelante en el apartado de variaciones en el número de copias).

El otro aspecto, el de la función de los telómeros, tiene una importancia relevante en los procesos de envejecimiento y sobre todo en el cáncer, pero también en el mantenimiento de la estabilidad de los cromosomas.

Empezando por esto último, cada uno de los cromosomas precisa de la integridad de sus dos telómeros, brazos cortos y brazos largos, para mantenerse estable, de otra forma el cromosoma tiende a producir aberraciones fundamentalmente por fusión o traslocación con otros cromosomas (284).

Otro aspecto es el del ciclo celular. A medida que una célula se va dividiendo, sus telómeros se van acortando sin posibilidad de recuperarse de forma que cuando han desaparecido los telómeros, la célula es programada para su desaparición, por lo tanto, parece claro que el número de divisiones de una célula está escrito en sus telómeros. Pues

bien, anomalías en los procesos de mantenimiento de los telómeros, como es el caso de la actividad continua de la telomerasa que provocaría una reconstrucción constante de los telómeros, independientemente del número de veces que se haya dividido esa célula, tiene unas implicaciones claras en la patología tumoral y puede considerarse como posible diana terapéutica en dicha patología (285).

### *Oncocitogenética molecular*

Desde el comienzo del análisis citogenético de las enfermedades malignas en el hombre, quedó claro que casi todos los tumores sólidos, tenían anomalías en el cariotipo y que algunas de estas anomalías aparecían de forma específica solo en un determinado tumor.

Una vez determinadas las anomalías cromosómicas, los esfuerzos científicos se dirigieron a clonar el o los genes implicados en el reajuste cromosómico —la mayoría eran traslocaciones— y de esa forma identificar los genes cuyas funciones eran críticas en el crecimiento y desarrollo de la célula tumoral. En los años 80 se empezaron a relacionar oncogenes con traslocaciones cromosómicas específicas de diferentes tumores, incluidas las leucemias.

La introducción de las técnicas de citogenética molecular en la década de los 90 y su aplicación a la citogenética oncológica, supuso un enorme avance cuyas consecuencias aún hoy se están viviendo, como son el uso de los genes de fusión y sus productos como dianas terapéuticas en diferentes tipos de tumores y en diferentes etapas biológicas de estos tumores.

Como ya se mencionó previamente, Janet Rowley, la descubridora de la primera traslocación cromosómica en la leucemia mieloide crónica, la traslocación 9;22 (86), califica este hallazgo y los que en cascada aparecieron poco después —más de 70 traslocaciones en 1990—, como la piedra roseta de la citogenética oncológica (286). Pero no solo fueron importantes las traslocaciones, sino también las deleciones, fuente de localización de los genes que posteriormente se conocerían como genes supresores de tumores. El primero ejemplo fue la deleción del cromosoma 13q14 que ayudó a localizar y clonar el gen del retinoblastoma.

La localización de los genes implicados en la patología tumoral fue lenta entre los años 1970 y 1990, ya que la única herramienta de que se disponía era la citogenética cuya capacidad de resolución,

una banda cromosómica, contiene 5 millones de pares de bases. El advenimiento de las técnicas de citogenética molecular amplió la capacidad de resolución a unos pocos miles de pares de bases. Por supuesto que la resolución de la genética molecular es infinitamente mayor, una sola base, pero estas técnicas usan el ADN total extraído de un tejido, lo que implica un pool de ADN de varios miles de células. Por el contrario, las técnicas de FISH permiten el análisis en una única célula, o en células individuales, pero conservando siempre su estructura física y biológica y su posición dentro del tejido que se está analizando. Esto permitió observar cambios cromosómicos dentro de un tumor, en un momento determinado, observando las diferencias citogenéticas de las células centrales de un tumor y las células periféricas.

Uno de los primeros e importantes logros de la combinación de técnicas citogenéticas y moleculares fue la constatación de que el cromosoma Philadelphia de la leucemia mieloide crónica, no solo era una traslocación 9;22 sino que los puntos de rotura que posibilitan la traslocación se habían producido dentro de dos genes, el gen *ABL* localizado en la parte final de los brazos largos del cromosoma 9 y el gen *BCR* localizado en la parte final de los brazos largos del cromosoma 22, de forma que el producto final era un gen nuevo de fusión que además era funcionante y esta función era la causa del inicio de la leucemia mieloide crónica (287).

Actualmente se sabe que el 90 % de los pacientes con leucemia mieloide crónica tienen la traslocación  $t(9;22)(q34;q11)$  pero que no hay un único gen de fusión *ABL/BCR*, sino que dependiendo de los diferentes puntos de rotura en ambos genes, el resultante es diferente, con consecuencias clínicas también diferentes. En la mayoría, el resultado de la traslocación es que la parte 3' del oncogén *ABL* se trasloca desde 9q34 a la parte 5' del gen *BCR* localizado en 22q11, pero un 5-10% de los pacientes tienen una variante (288).

Entre los tumores sólidos, los primeros que se estudiaron fueron los sarcomas dada su facilidad de análisis, seguido por los tumores del tejido nervioso. En el año 2000, Felix Mitelman (269) contabiliza más de 600 traslocaciones balanceadas recurrentes, algunas de ellas patognomónicas de determinados tumores. Para Mitelman el efecto de estas traslocaciones se ejerce por dos mecanismos, desregulación de un gen por recolocarse en un receptor de células T, o creación de un gen de fusión. En ese año, 2000, ya había unos 100 genes implicados con la neoplasia y asociados a alteraciones cromosómicas.

sómicas específicas. Guisselson (289) apunta que los estudios de citogenética oncológica han demostrado que las alteraciones de la estructura y/o expresión de los factores de transcripción de los genes pueden jugar un papel crucial en la transformación de las células progenitoras en células malignas en el caso de los tumores hematológicos. Los tumores sólidos, por el contrario, se originan en células diferenciadas que requieren múltiples mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores para llegar a la transformación neoplásica. En el inicio, en ausencia de telomerasa, los telómeros se acortan confiriendo una inestabilidad cromosómica a la célula tumoral en la expansión clonal inicial. Esto hace que, posteriormente, las traslocaciones produzcan una reorganización constante del genoma celular que junto con las anomalías mitóticas producen finalmente un gran pleomorfismo y atipias nucleares, por lo que la morfología del tumor no solo depende de la línea celular transformada sino de la propensión a la inestabilidad cromosómica.

### CGH

En 1992 se introdujo la técnica de hibridación genómica comparativa (CGH: *comparative genome hybridization*) (290). La CGH es una forma de pintado cromosómico inverso que se usa para detectar las deleciones y duplicaciones del ADN genómico total de un paciente, esto es, las pérdidas y las ganancias de material genómico. La palabra comparativa viene del hecho de que se utiliza un ADN patrón para comparar la intensidad del marcaje del ADN y de esta forma poder cuantificarlo. El ADN del paciente o del tumor se etiqueta en un color y el ADN control en otro y se hibridan sobre cromosomas normales. Los problemas técnicos que planteó este procedimiento fueron grandes y un reto para llegar a su estandarización, en la que nosotros participamos (291). Uno de las mayores ventajas de la técnica CGH es su uso como una herramienta de investigación sin que sea necesario un conocimiento *a priori*. Durante unos cuantos años se efectuaron numerosos estudios en todo tipo de tumores, incluyendo diferentes estadios clínicos tumorales, lográndose grandes avances en la localización de genes o zonas genómicas implicadas en el desarrollo y progresión de los tumores.

La aplicación de la técnica de CGH fue muy útil en dos áreas. Por un lado, el avance en citogenética tumoral fue enorme ya que,

no solo permitió identificar cromosomas marcadores, sino que las zonas que aparecían delecionadas de forma habitual en un tumor determinado eran las zonas candidatas a genes supresores de tumores, mientras que las zonas habitualmente duplicadas eran las zonas candidatas a contener oncogenes. Por otro lado, permitió descubrir e identificar pequeñas duplicaciones o deleciones en pacientes con síndromes malformativos o con retraso mental no filiado.

Pero quizás el aspecto más importante de la técnica de CGH es que fue la base de la técnica de microarrays, simplemente cambiando las metafases con cromosomas enteros por celdillas con secuencias cromosómicas más pequeñas.

### *Microarrays*

La introducción de la citogenética molecular en la cartera de los análisis clínicos en los departamentos de genética condujo a una explosión de publicaciones en la década de los 90 sobre la prevalencia y la variedad de los reajustes genómicos. La capacidad de localizar segmentos específicos de ADN en los cromosomas metafásicos y en los núcleos en interfase, permitió identificar pérdidas y ganancias y reajustes de secuencias de ADN asociados, entre otros, a síndromes de microdelección y microduplicación. Pero la sensibilidad de las técnicas de FISH está limitada por el tamaño de las sondas. En ese momento, la información proveniente del proyecto genoma humano, hacía posible analizar cualquier parte del genoma, detectando variaciones en el número de copias. La técnica de CGH, como ya se ha mencionado, fue la primera que posibilitó la detección del número de copias. La CGH cromosómica es una técnica robusta para identificar desbalances a gran escala, pero usar los cromosomas hace que sea difícil detectar anomalías que impliquen regiones menores de 20 Mb del genoma.

Poco después, las mejoras técnicas y tecnológicas proporcionaron la posibilidad de realizar análisis de CGH basados en formatos de microarray en los que las sondas de ADN se colocan en un array que contienen las zonas cromosómicas en las que interesa conocer si hay duplicaciones o deleciones (292). Por lo tanto, la diana de hibridación que eran los cromosomas metafásicos se sustituyen por un gran número de clones que se distribuyen en forma de puntos en un portaobjetos microscópico estándar, lo que aumenta enorme-

mente la resolución de los puntos de hibridación. El ADN test y el ADN de referencia, como en la CGH convencional, se etiquetan con fluorocromos de diferente color. Una vez realizada la hibridación, se recoge la imagen fluorescente del array y se analizan las diferencias en la intensidad de hibridación. A diferencia de la CGH convencional en la que la imagen adquirida provenía de un microscopio de fluorescencia estándar, en este caso la fuente de luz suele ser uno o varios laser y el sensor es diferente al convencional de una cámara de fotos o de video. Dado que son millones los puntos de hibridación y la necesidad de analizar un número considerable de arrays, la automatización ha sido clave para el éxito de esta técnica.

Con un único análisis, el array de CGH puede detectar errores genómicos en enfermedades que habitualmente se estudian por métodos citogenéticos utilizando múltiples análisis de FISH. Los array de CGH se han utilizado ampliamente en la detección de desbalances cromosómicos en los tumores sólidos (293), en niños con retraso mental (294) o para detectar otras anomalías cromosómicas constitucionales, incluidos los reajustes subtelo méricos (295).

Los límites en la detección de diferencias en el número de copias en los array de CGH dependen de la densidad de las sondas y de la resolución de la plataforma empleada. Las sondas de ADN van desde los clones genómicos, casi siempre BACs (80-200 kb) hasta los oligonucleótidos (25-85 bp). Si los clones genómicos se usan como diana de hibridación, el tamaño de cada diana y la distancia entre dianas definen los límites del rango de detección. Por ejemplo, si los BACs se distribuyen en intervalos de 1 Mb, cualquier cambio en el número de copias que esté entre 2 BAC consecutivos y sea menor de 1 Mb, no será detectado. Si los BACs se distribuyen cada 0,5 Mb, la plataforma tiene doble capacidad de detectar anomalías o cambios en el número de copias.

Si el array es de oligonucleótidos se pueden detectar mayor número de pérdidas y ganancias, y si lo que se pretende es estudiar una única región genómica, la densidad del array y su sensibilidad aumenta enormemente. Actualmente las plataformas utilizan desde miles hasta un millón de SNPs (*single-nucleotide polymorphisms*) distribuidos a lo largo de todo el genoma. Los arrays de oligonucleótidos utilizando SNPs no son solo capaces de detectar variaciones de número de copias sino también, a nivel de un único gen, detectar pérdidas de heterocigosidad, LOH (*lost of heterocigosity*). Estos array de más de 100.000 SNPs se diseñaron para genotipado e identifica-

ción de regiones del genoma que se asocian a determinados fenotipos.

Pero los array de CGH, que se usan fundamentalmente para analizar los cambios en el número de copias, no sirven para detectar traslocaciones ni inversiones, importantes en patología tumoral. Incluso, dada la densidad de sondas que estas plataformas tienen actualmente, para la detección del número de copias se requiere un diseño cuidadosamente pensado y evaluado para las regiones genómicas más complejas.

Aunque la técnica de los array de CGH es muy robusta detectando alteración en el número de copias, el gran problema clínico emerge en su interpretación. ¿Cuáles de los cambios que se observan son casuales y cuáles causales? Para ello, empiezan a estar disponibles bases de datos con información de las variaciones normales, incluso estratificadas por grupos étnicos. En cualquier caso, cualquier variación encontrada en un array de CGH debe de ser comprobada físicamente en cromosomas utilizando una sonda específica de ADN además de estudiar a los progenitores antes de decidir que un cambio en el número de copias puede tener un significado patológico.

El término alteración o enfermedad genómica se usa para describir una ganancia (duplicación) o pérdida (delección) de una región cromosómica determinada y que clínicamente se asocia a un síndrome genético compuesto de malformaciones congénitas y/o alteraciones neurológicas del desarrollo cognitivo. Se deduce que las alteraciones clínicas se han producido por un cambio en la dosis génica de uno o varios genes contiguos. Menos frecuentemente, el cuadro clínico puede ser originado por la disrupción de un gen, la aparición de un gen nuevo de fusión, por el efecto posicional que puede cambiar el estado de activación o silenciamiento de un gen o por el des-enmascaramiento de un gen recesivo ocasionado por una pérdida de heterocigosidad.

De esta forma se han podido, no solo describir síndromes nuevos, sino también descubrir nuevos mecanismos etiológicos para síndromes o cuadros clínicos previamente conocidos.

Michael Speicher y Nigel Carter (270) en su amplia revisión sobre las técnicas citogenéticas muestran un ejemplo de cómo los métodos citogenéticos se pueden combinar para analizar cualquier aberración cromosómica: un niño con retraso mental y rasgos dismórficos. En su publicación describen en su ejemplo cómo el aná-

lisis de citogenética convencional muestra un reajuste cromosómico complejo, pero no es suficiente para identificar el origen del material cromosómico extra que se observa en el cromosoma 8 ni asignar de forma correcta cuales son los cromosomas implicados en otros reajustes que se observan. La técnica de multi-FISH es capaz de identificar a los cromosomas implicados: 2, 5, 6, 8 y 14 pero no da información sobre el o los posibles desbalances. La técnica convencional de CGH es incapaz de demostrar la existencia de variación en el número de copias, pero el array de CGH identifica cuatro zonas genómicas delecionadas que estaban por debajo de la resolución del CGH cromosómico y también permite mapear los puntos de rotura. Por lo tanto la combinación de todas las técnicas, paso a paso, siguiendo un protocolo adecuado, es una herramienta poderosa del diagnóstico genético moderno.

Los arrays de ADN, que permiten el estudio de miles de genes en un experimento único, no son solo de CGH, sino que pueden ser de oligonucleótidos, secuencias génicas parciales o cDNAs completos. Lo que hace que su uso puede ser para diferentes propósitos como la expresión génica o la evaluación de cambios epigenéticos.

### *Micronúcleos y biomarcadores de mutagenicidad*

Los micronúcleos son unas estructuras con las mismas características estructurales y tintoriales que un núcleo pero de tamaño mucho más pequeño y que están localizados en el citoplasma. Se originan de fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros que se quedan retrasados en la anafase, durante la división nuclear.

El análisis de micronúcleos (MN) es una técnica que tiene una historia previa y posterior a la introducción de la citocalasina B que sirvió para su estandarización. Actualmente se considera que es una técnica citogenética estándar como test de mutagenicidad ambiental o de genotoxicología genética (296).

Los micronúcleos se describieron hace más de 100 años por Howell quien los denominó «fragmentos de material nuclear» y por Jolly que los llamó «corpúsculos intraglobulares»; por eso los hematólogos les conocían como los corpúsculos Howell-Jolly. Estos micronúcleos se encontraban con bastante facilidad en las células que habían sido irradiadas, por lo que se pensó contenían fragmentos cromosómicos acéntricos que eran excluidos de los núcleos hijos tras la división celular. Evans y col (297) ya propusieron en 1959 el

uso de los micronúcleos como marcadores del daño citogenético inducido por los neutrones y los rayos gamma en la raíz de *Vicia faba*.

El primer estudio in vivo sobre efectos mutagénico, sin necesidad de hacer cultivos celulares, fue el de Boller y Schmid en 1970 (298) quienes estudian micronúcleos en médula ósea de rata con Trenimon y lo denominaron *micronucleus test*. Inicialmente, el test de micronúcleos era un procedimiento que permitía la detección de aberraciones cromosómicas de forma indirecta en eritroblastos de médula ósea. El test se basa en que los MN se forman a partir de trozos de cromatina procedentes del resultado de roturas cromosómicas y su posterior reparación o de anomalías del huso acromático que impide que los cromosomas migren a los polos durante la anafase y no se incorporen en el núcleo en la telofase de la célula en división. Tras las primeras aproximaciones, el test MN fue modificado por Heddle (299) para su uso en los eritrocitos de médula ósea y poco después por Countryman y Heddle (300) para su análisis en los linfocitos periféricos.

Un impulso definitivo a esta técnica ocurrió en 1985 cuando Fenech y Morley (301) comienza a utilizar la citocalasina B que impide la división del citoplasma pero no la del núcleo en la división celular. De esta forma se pueden observar a las células tras su primera división, con dos núcleos dentro de un único citoplasma, de forma que si hay uno o varios micronúcleos dentro de ese citoplasma, estarán siempre relacionadas con esa división mitótica, ya contengan un fragmento cromosómico o un cromosoma entero.

Con esta sencilla modificación se consiguió un análisis estandarizado. La técnica se basa en la hipótesis de que cualquier anomalía cromosómica inestable se desechará de la célula en forma de micronúcleos. El hecho de que no se divida el citoplasma permite saber que el MN pertenece a una célula donde ha ocurrido un fenómeno clastogénico —un trozo de cromosoma, tras una rotura, se engloba en un micronúcleo— o un fenómeno aneugénico —un cromosoma entero «perdido» o no asignado se incluye en un micronúcleo—. Por lo tanto, cabe esperar que como consecuencia de la acción de un agente genotóxico aumentará la tasa de micronúcleos.

La técnica de micronúcleos con citocalasina-B se estandarizó con el nombre de test CBMN (*cytokinesis-block micronucleus*), y consiste en el análisis de 1.000 células binucleadas en las que se estima la tasa de micronúcleos. Normalmente, en un individuo normal, la tasa de micronúcleos en linfocitos periféricos es de 4 a 8 por 1.000 células binucleadas.

El gran éxito de la técnica de micronúcleos es que siendo más fácil y rápida de realizar que la de las aberraciones cromosómicas, permitía aumentar la capacidad de análisis de agentes químicos potencialmente genotóxicos tanto *in vitro* en células humanas como estudiar los efectos genotóxicos en poblaciones expuestas a aquellos, incluso posibilitando una dosimetría biológica tras exposiciones a radiación ionizante (302). Además, el estudio de micronúcleos no solo permite monitorizar poblaciones humanas, sino que es posible estudiar la variación individual de respuesta a mutágenos de forma rápida, entre los que se encuentra la posible «radiosensibilidad» (303) de un individuo. En realidad, tanto en la respuesta a mutágenos en general, o en la radiosensibilidad en particular, lo que se estima es la capacidad de reparación que tiene un individuo después de estar expuesto a un agente mutagénico o carcinogénico, capacidad de reparación que está en gran parte regida por unas decenas de genes dentro de las diferentes vías de reparación de mutaciones.

Con la aplicación de la tecnología FISH, mediante la hibridación con una sonda pancentromérica, se pueden diferenciar dos tipos de micronúcleos: el formado por un trozo acéntrico de cromosoma, producto final de aberraciones cromosómicas inestables o desecho cromosómico tras la mitosis, con un significado de daño clastogénico, y el micronúcleo que contiene un cromosoma entero y que, inducido por agentes aneugénicos, significa no-disyunción o aneuploidía cromosómica cuyas consecuencias serán cáncer o síndromes malformativos.

Pero el test de CBMN no solo sirve para cuantificar y clasificar el tipo de micronúcleos por cada 1.000 células binucleadas. Para la realización de este test, es necesario cultivar los linfocitos humanos durante 72 horas, por lo que al final se observarán al microscopio células mononucleadas, aquellas que no se han dividido en el cultivo, células binucleadas o células que se han dividido una sola vez en el cultivo, y células tetranucleadas o células que se han dividido al menos dos veces en el cultivo. Este hecho permite cuantificar la proporción de células que están en el primer, segundo y tercer ciclo celular. Si se compara esta distribución entre el cultivo experimental o individuos en estudio y el cultivo control —siempre debe de haber uno— se pueden detectar cambios en la velocidad del ciclo celular o índice mitótico.

Además, ocasionalmente se observan «puentes» de cromatina NPBs (*nucleoplasmatic bridges*) entre los dos núcleos de una célula

binucleada o también una especie de ampollas de excreción o diminutos pseudópodos que salen de un núcleo. Mediante técnicas de FISH, se ha podido demostrar que los puentes de cromatina están formados por una traslocación entre dos o más cromosomas que «impide» la separación de los dos núcleos (304). Las excrecencias nucleares (*nuclear buds*), por el contrario, corresponden a ampliificaciones génicas (305). Esto hace que se considere al test de CBMN como una prueba multipropósito ya que se pueden analizar roturas cromosómicas, no-disyunciones, índice de proliferación celular, apoptosis y, posiblemente traslocaciones y ampliificaciones. Es lo que Fenech denomina «*Cytome assay*» (306).

Por lo tanto, el CBMN test, al ser de fácil aplicación tanto en poblaciones como experimentalmente, es una alternativa para estudios a gran escala y está tomando un auge importante en su aplicación como un biomarcador útil en salud ambiental (307) y se está haciendo grandes progresos en su validación como marcador predictivo de salud (308). Nosotros hemos participado en un estudio reciente en la Comunidad de Madrid para observar el estado de salud de la población correspondiente a dos grupos geográficos aplicando esta técnica en parejas de adultos y sus hijos recién nacidos (309).

En el caso particular de las radiaciones ionizantes, se han publicado varios estudios en poblaciones expuestas laboralmente a radiación ionizante. Thierens y col (310) en trabajadores hospitalarios observan un aumento de MN pero sin correlación con la dosis, principalmente observa un aumento del daño aneugénico y una gran variabilidad individual, como ya reportó Fenech (311) relacionándolo con variables intra- e interindividuales. Por lo tanto, tanto en MN como en traslocaciones, no parece encontrarse una relación dosis-daño a muy bajas exposiciones, pero en estudios recientes se observa una distribución interindividual muy variable de MN, lo que indicaría que en la «cola» alta de la distribución estarían los individuos con una respuesta exagerada, los individuos radiosensibles, esto es, aquellos individuos que reparan peor. La ventaja de analizar la radiosensibilidad de trabajadores expuestos a radiación ionizante es obvia dado que está establecido que la radiosensibilidad cromosómica puede ser un marcador de predisposición al cáncer o, dicho de otro modo, podría haber evidencias (312) de que la frecuencia de MN es un marcador predictivo del riesgo de cáncer en una población de individuos sanos.

Como cualquier otra técnica citogenética, el test CBMN también ha sido objeto de automatización para facilitar los estudios masivos (313) y en el que nosotros en colaboración con la Escuela de Ingenieros de Telecomunicación hemos construido un prototipo (314).

### *Test de estrés citogenético*

En la década de los 80 se empezó a utilizar los mismos test de la toxicología citogenética para diagnosticar los denominados síndromes de inestabilidad cromosómica. La metodología estándar de determinación de aberraciones cromosómicas sirve para diagnosticar la anemia de Fanconi, el Xeroderma Pigmentosum, la Ataxia Telangiectasia, el síndrome de Nijmegen, la disqueratosis congénita, entre otros, y la determinación de SCE para el diagnóstico del síndrome de Bloom. En todas estas enfermedades o síndromes se observa un drástico incremento de aberraciones cromosómicas, principalmente roturas y figuras triradiales, y/o intercambio de cromátidas hermanas o SCE, que es lo que caracteriza a estos síndromes y de donde viene su nombre genérico.

Pero no siempre un aumento considerable de mutaciones cromosómicas significa que sea causado por alguno de estos síndromes. Puede ser un fenómeno puntual debido a una infección vírica, a la ingesta de un medicamento, o a una exposición diagnóstica a radiaciones. Además hay una zona fronteriza borrosa o de solapamiento con las tasas «normales» de mutaciones cromosómicas. Por todo ello, la mejor forma de llegar a un diagnóstico claro de inestabilidad cromosómica, es utilizar los test de provocación o de inducción de daño genético. Estos test de estrés consisten en inducir un daño cromosómico, que se manifestará en forma de aberraciones cromosómicas o SCE, con agentes que inducen ese daño y observar la diferente respuesta de incremento del daño cromosómico, «normal» en los controles y «exagerada» en los pacientes. El agente mutágeno o genotóxico que se utiliza como «provocador» o inductor es diferente en cada síndrome y se elige basándose en el hecho de que cada uno de estos síndromes es deficitario en alguna de las vías de reparación de daño del ADN, de esta forma, el agente elegido será aquel que provoque un tipo de daño en el que el síndrome sospechoso es deficitario en su reparación: diepoxibutano o mitomicina-C en la anemia de Fanconi, radiación ionizante o radiomiméticos

como la bleomicina en la ataxia-telangiectasia y el síndrome de Nijmegen, bromo-deoxi-uridina en el síndrome de Bloom, radiación ultravioleta en el xeroderma pigmentoso.

Actualmente, aunque se conoce la biología molecular y los genes causantes de estos síndromes, dado el gran número de diferentes mutaciones, más de 500 en el gen *AT* de ataxia-telangiectasia, o la heterogeneidad genética de la anemia de Fanconi, 15 genes diferentes, hace que los test citogenéticos de roturas cromosómicas o de estrés citogenético, sean la primera aproximación diagnóstica en estas enfermedades, sobre todo en el caso de la anemia de Fanconi donde la combinación de una anemia con malformaciones congénitas variables la hacen sospechar y la necesidad de iniciar tempranamente un tratamiento como el trasplante de médula ósea, no permite tener un plazo suficientemente amplio de tiempo para realizar un diagnóstico molecular preciso.

### **La caída de las reglas de oro**

Linda y Edward McCabe (315) en un comentario en la revista *American Journal of Medical Genetics* en 2006, subtítulo «cómo los pacientes informan a la ciencia ignorando el dogma», escriben: «El dogma en genética molecular hasta 1990 decía que el genotipo podía predecir el fenotipo. Este fue uno de los argumentos utilizados para promover el proyecto genoma. De hecho, esta creencia estaba firmemente arraigada en la cultura genética, por lo que muchas revistas eliminaron las descripciones clínicas de los pacientes como condición previa para publicar artículos sobre las enfermedades originadas por una mutación. Se pensaba que la descripción molecular de una mutación y la descripción clínica eran completamente redundantes. Era el concepto del reduccionismo. Sin embargo, la naturaleza no había informado a los pacientes y a su biología sobre esta creencia.»

Hoy se sabe que los fenotipos de enfermedades monogénicas son rasgos complejos, que los niveles de función de una proteína no son absolutos, que un rango indeterminado de función de una proteína en algunos pacientes será sintomático mientras que en otros no, que en las enfermedades monogénicas puede haber modificadores genéticos y ambientales (316).

Es precisamente en la década de los 90 cuando algunos de los dogmas, como el citado previamente se rebaten, pero sobre todo, se

observó que algunas de las consideradas reglas inmutables de la genética no se cumplen en algunos pacientes, tales son:

- Un gen siempre actúa de la misma forma
- Un individuo tiene dos alelos, cada uno de ellos procedente de cada uno de sus dos progenitores
- La herencia está escrita en el código genético

pues bien, para explicar determinados fenómenos que no parecían seguir las reglas, es en esta década cuando surgen los siguientes conceptos y teorías:

- disomía uniparental
- *imprinting*
- epigenética

### *Disomía uniparental*

Todos los individuos de la especie humana tienen dos juegos de cromosomas, uno procede del padre y el otro de la madre. La disomía uniparental se refiere a la presencia de las dos copias de un cromosoma o parte de un cromosoma procedente sólo de uno de los progenitores. El primero en describir y enunciar este hecho denominándolo disomía uniparental fue Engel en 1980 (317). Dependiendo de cómo sea el juego de cromosomas con disomía, esta se denomina isodisomía uniparental o heterodisomía uniparental materna o paterna. En el primer caso, isodisomía, los dos cromosomas se corresponden a la duplicación de un cromosoma que procede de un único progenitor. En el segundo caso, heterodisomía, los dos cromosomas se corresponden a los dos cromosomas de un único progenitor.

La disomía uniparental no produce patología per se, pero dada la existencia de una impronta de origen en algunos genes, si la disomía uniparental se corresponde con una zona cromosómica que está marcada por su origen, puede hacer que la zona con disomía uniparental esté silenciada lo que produciría una nulisomía funcional, o por el contrario esté activada lo que produciría una disomía funcional cuando en esa zona la dosis génica esperada es una monosomía funcional.

¿Cómo es posible que haya individuos con disomía uniparental? Hay varias hipótesis, pero la más frecuente y comprobada es la del

rescate de una trisomía (318). Por un error meiótico o, con menos frecuencia, mitótico, en las primeras divisiones tras la fecundación se produce un embrión con una trisomía cromosómica. A veces, la naturaleza es capaz de rescatar estas trisomías, en los primeros días de vida del embrión se produce una no disyunción en una mitosis, perdiendo la célula hija uno de los cromosomas que formaban la trisomía, posteriormente, debido a una selección celular a favor de las células disómicas, son éstas las que perviven. Ahora bien, el cromosoma que se «perdió» no tenía por qué ser necesariamente el duplicado, el que produjo la trisomía, por eso algunos de los embriones resultantes del rescate tienen una disomía uniparental.

Esta hipótesis del rescate de una trisomía no solo es cierta sino que hay que tenerla en cuenta cuando se realiza un diagnóstico prenatal. Como el rescate de una trisomía no se produce de forma recortada en el tiempo, sino que poco a poco se van perdiendo las células trisómicas, es fácil detectar un mosaicismo cromosómico trisomía/disomía en el momento de realizar un diagnóstico prenatal, más cuando se realiza mediante biopsia corial que por amniocentesis, dada la edad de gestación de ambos procedimientos. Esta es la razón por la que cuando se detecta un mosaicismo cromosómico, sobre todo cuando el cromosoma implicado es uno de los que participan en los síndromes dependientes de imprinting, se debe de realizar siempre un análisis encaminado a detectar una disomía uniparental.

Este fenómeno se descubrió a la vez que el imprinting, ya que el uno sin el otro, de forma aislada, no se justificaban. Por último, la teoría epigenética surgió para explicar el mecanismo por el que se producía el marcado de los genes y posteriormente se extendió a otros procesos funcionales en todo el genoma.

### *Imprinting*

Desde que Mendel introdujo el concepto de transmisión hereditaria como el resultado de la transmisión de factores hereditarios inmutables, el dogma central de la genética consistía en que los genes tenían igual efecto ya provinieran del padre o de la madre.

Los genes con *imprinting* o con impronta representan un desafío curioso a la genética mendeliana. Los mamíferos heredan dos juegos completos de cromosomas, uno de la madre y el otro del padre y para la mayoría de los genes autosómicos se expresarán tanto el alelo materno como el alelo paterno. Los genes con impron-

ta, sin embargo, se expresan solo en un cromosoma, el materno o el paterno, dependiendo del tipo de impronta que tenga ese gen, además el hecho de que uno de los alelos esté activado y el otro suprimido no puede explicarse por un fenómeno de abundancia de factores de transcripción.

Por lo tanto, el imprinting genómico es un proceso epigenético por el que en la línea germinal del macho o de la hembra en los mamíferos placentarios se confiere un marca específica del origen parental en los genes de ciertas regiones cromosómicas. En la especie humana se han encontrado regiones con improntas en los cromosomas 6, 7, 11, 14 y 15 haciendo que haya alrededor de 200 genes con una impronta de origen materno o paterno, de forma que su expresión depende del origen parental, lo que hace que el genoma materno y paterno no sean equivalentes.

El imprinting genómico es un proceso reversible que no afecta a la secuencia del ADN. El mecanismo principal por el que se produce es una metilación de las citosinas dentro de las «islas» CpG. Pero también hay otros mecanismos como el de la modificación de las histonas mediante acetilación, ubiquitinación y metilación de la lisina. Mediante la modificación de las histonas se está determinando la accesibilidad de los promotores y potenciadores de la transcripción.

Uno de las primeras regiones cromosómicas descritas con imprinting es la del cromosoma 15q11-q13, ya que el resultado de sus alteraciones producen dos síndromes bien definidos y conocidos antes de la era citogenética: los síndromes de Prader-Willi y de Angelman. En un número importante de pacientes con ambos síndromes se observó la existencia de una delección muy pequeña del cromosoma 15, lo sorprendente es que la misma delección aparecía en los dos síndromes clínicamente tan dispares. El estudio de estos dos síndromes facilitó la observación de los dos fenómenos juntos, la disomía uniparental y el imprinting.

Se observó que en el síndrome de Prader-Willi (obesidad, retraso mental moderado y alteraciones de la regulación hipotalámica como el apetito, sueño, temperatura) cuando se producía por delección (70 % de los pacientes), ésta se producía siempre en el cromosoma de origen paterno. Por el contrario en el síndrome de Angelman (convulsiones, retraso mental profundo, facies característica), la delección se producía siempre en el cromosoma 15 de origen materno. Posteriormente se descubrió que en los pacientes que no tenían la delección cromosómica, había una disomía uniparental ma-

terna en el caso del síndrome de Prader-Willi y paterna en el caso del síndrome de Angelman.

Esta disomía uniparental que originaba patologías diferentes solo se podía explicar por los fenómenos de imprinting, de forma que en el síndrome de Prader-Willi el gen *SPRN* está activo en la copia de origen paterna mientras que en el síndrome de Angelman es el gen *UBE3A*, cercano a los anteriores, el que está activo en la copia de origen materno (319).

Otras enfermedades originadas por alteración en el equilibrio de imprinting son el síndrome de Beckwith-Wiedeman, caracterizado por hipercrecimiento y mayor riesgo de tumores y originado por disomía uniparental paterna (320) y el síndrome de Silver-Russell, caracterizado por un hipocrecimiento. Los genes de ambos síndromes forman otro *cluster* como el de Prader-Willi/Angelman, en el cromosoma 11p15. En el síndrome de Beckwith-Wiedeman hay una sobreexpresión del gen *IGF2* y una pérdida de función del gen *CDKN1C*, en el síndrome de Silver-Russell es la ausencia de función del gen *IGF2* la que originaría la alteración.

Los genes con impronta tienen una marca que define su origen, materno o paterno. Ahora bien, todas las marcas se borran en las células primordiales germinales, para volver a establecerse, dependiendo de cuál sea la meiosis, masculina o femenina, en los últimos estadios del desarrollo de las células germinales. Muchos de los genes con imprinting están implicados en el desarrollo embrionario y fetal y, sobre todo, en la regulación de la adquisición de recursos. Esto ha llevado a construir, por parte de los biólogos conductistas, la teoría del conflicto genómico de los sexos, la denominada hipótesis de *kinship selection*, o de cómo la madre o el padre entienden el «reparto» de recursos en sus descendientes (321).

### *Epigenética*

Aunque el término epigenética literalmente significa por encima de la genética, se usa generalmente para referirse a los cambios en la expresión génica que tienen lugar sin que haya cambios en la secuencia del ADN. La epigenética y la epigenómica son la razón, entre otras, de que no exista un genotipo inequívoco (162).

El primero en utilizar la palabra epigenética fue Waddington (322) en 1940. La utilizó para referirse al control de los genes du-

rante la etapa del desarrollo y que daba lugar a los fenotipos que se observaban.

La metilación del ADN, las modificaciones covalentes de las histonas y de la cromatina y el ARN de interferencia representan ejemplos de epigenética, también denominada herencia no mendeliana de un rasgo que se localiza en alguna parte entre el genotipo y el fenotipo. Para hacer aun más difícil de comprender este fenómeno, algunas variantes epigenéticas pueden heredarse, indicando la existencia de un mecanismo de herencia biológica no basado en la secuencia del ADN.

Aquí se debería recordar a Lamarck (1744-1829) que sugería que había una herencia de rasgos adquiridos, rasgos que se adquirían por cualquier razón como el alargamiento del cuello de las jirafas para alcanzar mejor las hojas de la copa de los árboles, que sería heredado en la generación siguiente.

Para entender cómo funciona el control epigenético, es necesario tener en cuenta que la molécula de ADN esta plegada de una forma muy compleja dentro de la célula y que este plegamiento está relacionado con el control de la expresión de los genes. El plegamiento del ADN se realiza envolviéndolo con las histonas, de forma que los cambios químicos secundarios en las histonas están relacionados con que el hecho de que un gen se esté expresando o no. También se puede modificar el estado funcional del ADN mediante la metilación de las citosinas. Los cambios químicos que modifican la función de las histonas son metilación, acetilación, fosforilación y ubiquitinización. Todos estos cambios químicos, tanto en el ADN como en las histonas, son reversibles y están mediados por enzimas que son tejido-específicas. Un tercer tipo de epigenética o control del silenciamiento genético es el que se ejerce en el cromosoma X mediante micro ARN.

Las variaciones celulares y funcionales de los diferentes tejidos, desde el punto de vista genético, tienen que ver con genes específicos que se expresan en cada tejido, todo ello bajo el control epigenético, ya que los mismos genes están presentes en cada célula, pero el fenotipo tisular es totalmente diferente de un tejido a otro.

Los mecanismos y los efectos epigenéticos se han ido descubriendo paulatinamente a medida que se necesitaba explicar determinados procesos biológicos o patologías.

El primer proceso biológico concierne al cromosoma X. Mary Lyon (184;323) describió en 1961 que en los mamíferos todos los cromoso-

mas X están inactivos menos uno, de forma que se compensa la diferente dosis génica entre el macho, con un único X, y la hembra con dos. Pero esta inactivación del cromosoma X tiene sus peculiaridades. La primera es que la inactivación o el silenciamiento no ocurre desde el inicio de la fecundación, sino días después. La segunda es que la inactivación del cromosoma X se realiza al azar, en cada célula el cromosoma silenciado puede ser el de origen paterno o el de origen materno. Diferente es lo que ocurre en la placenta, en la que el cromosoma X silenciado es siempre el de origen paterno, como curiosamente ocurre en los mamíferos no euterianos o marsupiales. El mecanismo, en realidad es algo más complejo, ya que en los primeros estadios embrionarios se inactiva el cromosoma X paterno para poco después volverse a activar y ya, pocas semanas después, efectuarse la inactivación definitiva al azar (324).

El segundo proceso biológico concierne a los genes con impronta cuya carencia, ya sea por delección o por disomía uniparental, es capaz de producir patología en el ser humano (véase la sección anterior).

El tercer mecanismo biológico concierne al desarrollo y diferenciación de los tejidos, cuya alteración está implicada en el cáncer. Pero no solo se refiere al control de la expresión de los genes específicos de cada tejido, sino también al control de los trasposones, inhibiendo su replicación y previniendo la mutagénesis insercional. Las modificaciones epigenéticas constituyen un perfil único de cada célula y define la identidad celular regulando su expresión génica. Los perfiles epigenéticos se modifican durante la diferenciación celular y como son hereditarios, asegura que las células hijas tengan el mismo fenotipo que las células de las que proceden.

Los procesos mediante los que el desarrollo de las células germinales se regulan son tanto genéticos como epigenéticos. Entre los diferentes tipos de células que componen un organismo, las células germinales son las únicas que pueden dar lugar a un ser vivo nuevo. En la fertilización, tras la fusión del ovocito y del espermatozoide, el cigoto es totipotente, pero para adquirir esta totipotencia es necesario que las células hayan sufrido una reprogramación epigenética (325).

Las implicaciones de la epigenética en el desarrollo embrionario son cruciales, al inicio la mayoría de los genes se están expresando y posteriormente siguen un calendario de silenciamiento diferente para cada tejido que se mantendrá más o menos estable a lo largo de la vida adulta.

En el tejido tumoral, por el contrario, se encuentran cambios importantes en el patrón epigenético de las células ya que por un lado hay gran cantidad de genes que se activan mediante una desmetilación masiva, mientras que por otro lado hay otros genes necesarios para el funcionamiento correcto de la célula que se inactivan mediante patrones específicos de metilación, además se le añade un patrón aberrante de la modificación de las histonas. Esto hace que el patrón de metilación/desmetilación en el tejido tumoral este muy alterado, además de tener características específicas para cada tipo de tumor. Actualmente se están construyendo mapas epigenéticos (326) de los tumores de forma que ayuden no solo a conocer cuál es su desarrollo sino también a determinar posibles dianas terapéuticas.

### CNVs

La constatación de que hay una variación interindividual en el número de copias de trozos del genoma, demuestra que hay una plasticidad considerable del genoma humano. Estos cambios estructurales constituyen una fuente principal de variación genética interindividual que puede explicar la penetrancia variable de las enfermedades hereditarias, tanto mendelianas como multifactoriales, y la variación en la expresión fenotípica de las aneuploidías y rasgos o malformaciones esporádicas, incluso puede representar un factor importante en la etiología de los rasgos o enfermedades multifactoriales complejas (327).

Las variaciones en el número de copias o CNVs (*copy number variations*), pueden ofrecer alguna claridad en el enigma genético de la herencia de las enfermedades complejas, ya que puede abrigar genes u otros elementos funcionales que, o por alteración en el número de copia o por mutaciones puntuales deletéreas, originan o predisponen estos fenotipos. La exploración completa del impacto de los CNVs en el fenotipo precisa de la utilización de arrays de CGH de alta resolución, o alternativamente técnicas como el MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*), MAPH (*multiplex amplification and probe hybridization*) o QMPSF (*quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragment*) que son menos sensibles pero que se pueden utilizar para estudiar regiones específicas del genoma.

Actualmente el conocimiento que se tiene de los CNVs es incom-

pleto, más si se tiene en cuenta que los arrays de alta resolución que engloban a todo el genoma son capaces de detectar CNVs en el rango de varias kilobases. El futuro está en encontrar regiones con CNVs que no están en equilibrio Hardy-Weinberg y que pueden asociarse a determinadas enfermedades o fenotipos.

En realidad esto no es nuevo, en una escala más grande o grosera, ya se observaban variaciones en la estructura cromosómica desde la época de las técnicas de bandas cromosómicas en la década de los 70. El análisis de los cariotipos no solo daba información de los síndromes cromosómicos, sino que se observaban diferencias estructurales detectables con el microscopio en la población general. Más recientemente, se puso el énfasis en la caracterización de las variaciones del genoma que estaban dentro del rango entre un único nucleótido y alteraciones cromosómicas visibles (variantes estructurales submicroscópicas de menos de 5Mb).

Si lo esperado es que cada ser humano tenga dos copias de su genoma, es fácil asociar los CNVs con patología. Pero en los últimos 6 años se han publicado varios estudios en los que se identifican CNVs en individuos aparentemente normales (328;329). Estos CNVs incluyen inserciones y deleciones así como cambios más complejos que implican ganancias y pérdidas en el mismo locus. Los hallazgos recientes acerca de inserciones y deleciones mayores de 1 kb contribuyen de forma significativa a la variación del genoma humano. Hay una correlación estrecha entre duplicaciones segmentarias y variación en el número de copias. Las duplicaciones segmentarias no son otra cosa que repeticiones de pocas copias muy homólogas que vienen a formar parte del 5 % de todo el genoma. Sin embargo, el análisis del contenido de los CNVs muestra que el 30 % de la secuencia del CNV está formada por duplicaciones segmentarias, unas seis veces más que el resto del genoma (330).

¿Qué tipo de efectos tienen los CNVs? La posibilidad más obvia es la de la alteración de la dosis génica mediante las duplicaciones o deleciones de material genómico, pero alrededor de la mitad de los CNVs están fuera de la región de expresión de los genes con los que se asocian. Esto implica que pueden estar afectando la estructura génica o la regulación génica más que la dosis, incluso hay unos pocos casos en los que un aumento de la transcripción se asocia a una reducción de CNVs. El trabajo de Stranger y col (331) plantean la utilidad de los CNVs frente a los SNPs en el estudio de los fenotipos complejos.

Desde el punto de vista práctico, aproximadamente el 50% de los pacientes vistos en los servicios de genética clínica por anomalías congénitas esporádicas, no familiares, y retraso mental, salen de la consulta sin un diagnóstico específico. Esta situación desafortunada ocurre a pesar de realizar una buena exploración, estudios de imagen y análisis citogenéticos de alta resolución. Los pacientes dismórficos con síndromes submicroscópicos reconocibles como el síndrome de Williams, el síndrome de DiGeorge o CATCH22 y otros, añadiendo aquellos que han podido ser diagnosticados cuando se emplean sondas subteloméricas, sugieren que muchos pacientes dismórficos con estudios citogenéticos normales probablemente tengan pequeñas deleciones o duplicaciones indetectables en cualquier parte del genoma.

En las series de pacientes con retraso del desarrollo o con retraso mental, la citogenética convencional es capaz de diagnosticar entre 4 y 9,5 % de los pacientes. Utilizando microarrays se llegan a detectar posibles anomalías entre un 15 y 20 % (332).

No obstante, cuando se utilizan herramientas sensibles capaces de detectar los CNVs, como los array de CGH, la existencia de CNVs inesperados dificulta enormemente la interpretación de los resultados, aunque el estudio se realice en poblaciones seleccionadas de individuos con fenotipos complejos como retraso mental con malformaciones o, aun peor, caso de aplicar estas herramientas como cribado prenatal. En el primer caso, niño con malformaciones, lo que interesa es poder relacionar un CNV con la patología existente, en el segundo, diagnóstico prenatal, como predictivo de patología. Para ello, siempre que se encuentran uno o varios CNVs, se debe comprobar su existencia en los progenitores, además de utilizar herramientas más precisas como la hibridación con técnicas de FISH con sondas específicas. Por eso es necesario disponer de un algoritmo para interpretar los resultados de forma que sean útiles clínicamente y, sobre todo, para el paciente en particular. En principio, siempre que se observa un CNV se debe de estudiar a los padres para saber si es heredado o es *de novo*. Si es *de novo*, puede ser debido a un reajuste balanceado en uno de los progenitores. Si es heredado y hay mas familiares con patología se debe de observar si existe una correlación entre el CNV y el cuadro patológico. Por último, para establecer que un CNV es patológico debe de asociarse con esa patología en otros pacientes no relacionados y nunca observarse en población sana, de aquí la necesidad de una base de datos a nivel mundial.

## La genética de las enfermedades complejas

El estudio de la genética de las enfermedades complejas no habría sido posible sin el advenimiento de la tecnología molecular y sus herramientas de laboratorio que han propiciado nuevas formas de análisis (véase la sección de herramientas moleculares).

### *Diagnóstico molecular de las enfermedades multifactoriales*

La genética molecular moderna comienza con la técnica de «Southern blotting» que se dedica a analizar los fragmentos de ADN obtenidos tras la digestión con enzimas de restricción, lo que permite conocer la posición genómica de marcadores polimórficos denominados RFLPs (*restriction fragment length polymorphism*). Esta técnica lleva el nombre de su inventor Southern (333).

La siguiente técnica que supuso una revolución en el análisis molecular fue la de la PCR. Más adelante, las técnicas basadas en hibridación con sondas de ADN organizadas en matrices de microarrays y, finalmente, las técnicas de secuenciación, sobre todo las denominadas secuenciación de nueva generación, han supuesto la generalización de las técnicas moleculares y su disposición para cualquier área de la medicina facilitando la creación de laboratorios específicos en diferentes especialidades médicas.

Pero la simple introducción de nuevas tecnologías no significa mejoras si no hay un propósito o una dirección de análisis. La primera etapa del uso de estas tecnologías moleculares se dedicó al estudio de genes candidatos. La búsqueda de genes candidatos se realizó primero en las enfermedades mendelianas. No obstante, a pesar de la dificultad que suponía, se hicieron aproximaciones de búsqueda de genes en enfermedades multifactoriales utilizando métodos de asociación genética para determinar qué polimorfismos funcionalmente relevantes podían mostrar diferentes frecuencias alélicas entre los pacientes y los controles.

La utilización de marcadores cromosómicos, como anomalías cromosómicas raras, en pacientes con enfermedades mendelianas o con enfermedades complejas, podían sugerir la localización del gen o los genes causantes de estas enfermedades. De esta forma se consiguió mapear e identificar el gen de la distrofia muscular de Duchenne o el gen de la displasia ectodérmica anhidrótica. Para facilitar esta asocia-

ción, como se mencionó previamente, se organizó la base de datos en Europa de la Mendelian Cytogenetics Network (171).

Posteriormente, los estudios de ligamiento genético posibilitaron el diagnóstico molecular de varias enfermedades monogénicas. Los algoritmos que se usan para asignar genes en las enfermedades que siguen un modelo hereditario mendeliano son muy potentes, no así en el caso de las enfermedades multifactoriales en el que la situación es menos clara ya que un genotipo no se asocia inequívocamente con un fenotipo. En estos casos, las fenocopias, la expresividad variable o la penetrancia reducida, obligan a hacer nuevos y más complicados modelos matemáticos. La década de 1990 fue la época en la que se empezó a utilizar los estudios de asociación genómica amplia en las enfermedades complejas aunque los resultados fueron muy pobres ya que era difícil encontrar dos estudios sobre una misma enfermedad en la que coincidieran los genes candidatos de susceptibilidad. Hoy se sabe que el fallo en la adscripción de genes de susceptibilidad estaba en que el efecto o el peso de cada uno de estos genes en el fenotipo resultante es muy pequeño, por lo que los estudios de asociación necesitaban cohortes mucho más amplias para que los resultados tuvieran algún grado de significación (334).

Otra de las aproximaciones metodológicas utilizadas para el diagnóstico genético fue el clonaje posicional que permitió localizar y, estrechando los segmentos de ADN candidatos, clonar el gen. Hacer esto en las enfermedades complejas en las que hay genes de susceptibilidad con penetrancia reducida ha tenido muy poco éxito ya que los genes de susceptibilidad se pueden haber transmitido de generación en generación sin dar síntomas y hasta que no se combinan con otros genes de susceptibilidad o están en estado homocigoto, no van a aparecer síntomas clínicos.

Finalmente el proyecto HapMap (véase un apartado posterior) ha permitido los grandes estudios de asociación tal y como actualmente se están realizando con éxito desigual. Aunque el proyecto HapMap ha permitido definir millones de SNPs a lo largo de todo el genoma, no todos son útiles para los estudios de asociación en las enfermedades complejas multifactoriales. En el año 1999, Kruglyak (335) estimó que dado el tamaño del genoma, se necesitarían al menos 500.000 SNPs para realizar una asociación amplia que cubriera todo el genoma. Poco después se observó que había segmentos más largos en los SNPs que tenían mayor capacidad de asocia-

ción, lo que hizo que fueran menos los SNPs necesarios para realizar un estudio de asociación de todo el genoma con genes de susceptibilidad.

En agosto de 2010 hay unos 618 estudios publicados de asociación genómica completa que ha utilizado al menos 3.035 SNPs y cuyos resultados estaban en un nivel de significación del orden de  $p < 10^{-5}$ . Estos estudios están accesibles en un catálogo que está en el National Human Genome Research Institute dependiente de los NIH (336).

Este mismo autor, Kruglyak, escribe acerca de la «materia oscura de la herencia». Concepto que ha surgido tras constatar que cuanto mayor sea los estudios de asociación, más débiles son sus resultados y tomados en su conjunto, solo explican una fracción muy pequeña del componente genético de la enfermedad que se está analizando. Parece que hay un componente genético que no es mapeable mediante estudios de asociación, es lo que ha venido a llamarse la materia oscura de la herencia (337). Un ejemplo, en este sentido, es el que describe Kere (334) en la revisión que hace en 2010 sobre la estatura. La estatura tiene un componente hereditario importante, estimándose un coeficiente de heredabilidad de 0,8. Tras varios estudios de asociación, se han encontrado 20 loci asociados que tanto solo darían cuenta del 3 % de la variación en la estatura.

En estos momentos, la esperanza está puesta en la secuenciación. Con las nuevas tecnologías se ha posibilitado secuenciar el genoma completo de un individuo en poco tiempo y, lo que es más importante, con un coste económico razonable, que va disminuyendo cada día. Si hace 2 años se estimaba que secuenciar un genoma humano estaba en 9.000 euros, en estos momentos el coste está alrededor de 4.000 euros. A partir de aquí es razonable pensar que secuenciando genomas se podrá establecer con relativa facilidad cuales son los genes de susceptibilidad de cualquier enfermedad común. Pero esto es de momento un sueño. La realidad es que hasta el momento la secuenciación de un genoma completo individual ha servido para encontrar nuevos genes patológicos en enfermedades mendelianas. Tal es el caso de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth en el que la secuenciación del genoma de un niño afecto y el de sus padres, Lupski y col 2010, (338) ha permitido localizar un nuevo gen, que está implicado en esta enfermedad, lo que hace que sean 32 los genes conocidos que causan la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth.

Para tener una idea de cuan complejo de interpretar puede ser este sistema de secuenciar el genoma de un individuo y sus padres, baste saber que se estima que la tasa total de mutaciones nuevas que cada progenitor pasa al cigoto es de 30 (339).

Por último, una estrategia nueva surge en estos dos últimos años, analizar exclusivamente el exoma, la parte del genoma que se transcribe. Pero ¿será útil en las enfermedades complejas comunes? Finalmente, no se debe de olvidar la implicación de la epigenética en la etiología de estas enfermedades.

Para apoyar esta nueva aproximación, en este año ha aparecido un amplio estudio sobre la materia oscura realizado por van Bakel y col (340) en el que se cuestiona el concepto de materia oscura como aquella porción del genoma que se transcribe a ARN sin formar parte de genes, concluyendo que el número y abundancia de los transcritos intergénicos es bajo cuando se compara con los exones conocidos, por lo que el genoma no es tan predominantemente transcribable como se pensaba.

### *Enfermedades oligogénicas*

Vista la complejidad de la estrategia de análisis genético de las enfermedades multifactoriales, conviene mirar en la frontera que hay entre estas y las enfermedades monogénicas, bien caracterizadas y más fáciles de estudiar. Esta frontera está compuesta por las enfermedades oligogénicas, aquellas en las que intervienen dos o tres genes en su etiología.

La primera enfermedad oligogénica descrita ha sido una forma de retinitis pigmentosa de herencia digénica de forma que un individuo afecto es heterocigoto simultáneamente para dos mutaciones en los genes *RDS* y *ROM1*. Poco después, en 2001, se describió la herencia trialélica en el síndrome de Bardet-Biedl por Katsanis y col (341).

Estas enfermedades oligogénicas, bastante más complejas en su herencia, pueden dar la clave de cómo iniciar los estudios en las enfermedades multifactoriales, cuyos resultados no son, por el momento muy alentadores. Tras estudiar numerosas generaciones en familias grandes, la contribución de una variante en un rasgo de una enfermedad común se cree que puede ser del 1 al 5 % en términos de heredabilidad. Algunos estudios que han llegado a definir

algún gen significativo con un peso de hasta el 30 %, más parecido a una enfermedad oligogénica, no han podido ser replicados, como ha ocurrido con el gen *DYX1C1* en la dislexia, el gen *PDE4D* en los accidentes vasculares, el gen *BMP2* en la osteoporosis o el gen *ITPR3* en la diabetes tipo I.

### *Diagnóstico de enfermedades de comienzo tardío. Anticipación*

En la década de 1990, al mismo tiempo que las herramientas de biología molecular propiciaron el salto desde las enfermedades monogénicas a las multifactoriales o complejas en el análisis genético, dichas herramientas facilitaron el estudio de enfermedades genéticas de comienzo tardío, generalmente mendelianas.

Poder diagnosticar una enfermedad antes de que aparezcan sus manifestaciones clínicas quedaba fuera de la práctica tradicional de la medicina. Este es el hecho diferencial de la genética médica en la que el sujeto de estudio no es el paciente o el individuo, sino la familia. De esta forma, estudiando a una familia, no solo se podía predecir cuales serían las probabilidades de afectación de los futuros descendientes, una consulta habitual de consejo genético, sino identificar a los individuos sanos que indefectiblemente padecerían una enfermedad hereditaria. Este hecho que cambió radicalmente la forma de practicar el consejo genético, se unió a una peculiaridad que tenía alguna de estas enfermedades de comienzo tardío, la anticipación.

Enfermedades de comienzo en el adulto, como el corea de Huntington, de pronóstico fatal y comienzo entre los 50 y 60 años, había supuesto un reto en el consejo genético, no por su cálculo, ya que como enfermedad de herencia autosómico dominante con una penetrancia completa y sin variabilidad en la expresión era fácil, el reto venía por un fenómeno conocido desde los orígenes de la genética clínica, la anticipación. Se conoce como anticipación a la capacidad de adelantarse el comienzo de una enfermedad hereditaria a medida que va pasando de generación en generación. Es una característica de algunas enfermedades de comienzo tardío que hace que los hijos manifiesten la enfermedad unos años antes que lo hizo su padre y años después de lo que lo harán sus hijos que hayan heredado el gen patológico.

Durante los 30 primeros años de práctica de la genética clínica,

para calcular el riesgo en enfermedades con anticipación, se disponía de algoritmos complejos en los que una de las variables importantes era la edad que en el momento del consejo genético tenía el *probandus*.

El diagnóstico molecular facilitó el consejo genético, ya que obviaba estos cálculos, simplemente el análisis del gen hacía que el diagnóstico de portador y por lo tanto la posibilidad de padecer la enfermedad en el futuro fuera una certeza.

La biología molecular no solo posibilitó el diagnóstico, sino también la explicación del fenómeno de la anticipación, ésta se debía a la existencia de genes expansivos mediante tripletes de repetición, también denominados microsatélites malignos.

Conviene recordar los orígenes y significado de la anticipación. La noción de anticipación tiene sus raíces en la revolución francesa y en las observaciones de un «alienista» francés, Benedict August Morel, y las teorías sobre el atavismo del psiquiatra forense italiano Cesare Lombroso.

El concepto de anticipación viene de la teoría de la degeneración que propuso Morel en su *Traité des Dégénérescences* publicado en 1857 (342) en el que decía que la degeneración consistía en el deterioro progresivo de una enfermedad cuando pasaba de padres a hijos, apareciendo a una edad más temprana a medida que se sucedían las generaciones, hasta conseguir la desaparición de la línea familiar. El concepto de degeneración, renombrado como anticipación en el siglo XX se discutió bastante desde que Penrose argumentó que este fenómeno no era real sino un sesgo en la recogida de las historias familiares. Lo cierto es que Penrose buscó un argumento en contra de la degeneración, ya que él estaba en contra de los abusos cometidos por los eugenésicos que se habían apropiado en su beneficio de este concepto. Desde la revolución francesa, el cretinismo había sido uno de las claves sobre la influencia ambiental, la conducta humana y la política. Lombroso sugirió que la criminalidad era una forma de la degeneración. Concepto que resurgió de nuevo en los 60 con los varones que tenían una dotación cromosómica 47,XYY y las tendencias criminales innatas.

La primera enfermedad hereditaria descrita con el fenómeno de anticipación, tal y como hoy se conoce, fue la distrofia miotónica. Un oftalmólogo alemán, Fleischer, realizó la observación de la anticipación en 1918 (343).

El mejor estudio clínico, previo a la etapa molecular, fue el rea-

lizado por Höweler y col en 1989 (344) quienes encontraron una anticipación en la distrofia miotónica en el 98% de las 61 parejas padre-hijo analizadas, concluyendo que la anticipación debía de ser inherente a la transmisión de la enfermedad.

El mecanismo molecular se descubrió tres años después, cuando Brook y col en 1992 (345) descubrieron que la distrofia miotónica tenía una expansión del triplete de repetición CTG. A partir de ese momento se supo que había algunos genes que tenían un número variable pero no muy grande de tres nucleótidos que se repetían y que en las personas sanas el número de repeticiones pasaba de forma constante de padres a hijos. Por el contrario los individuos enfermos tenían un número más elevado de dichas repeticiones que además se habían inestabilizado y cada vez que el gen pasaba a la siguiente generación, a través de la meiosis del progenitor, aumentaba el número de repeticiones. El número estaba en relación con la gravedad de la enfermedad, entendiéndose como gravedad, en la mayoría de los casos, la anticipación en la edad de comienzo.

Esto se ha observado principalmente en enfermedades neurológicas como el corea de Huntington, en el que el triplete que se repite es CAG y su rango normal está entre 11 y 34 repeticiones, comenzando la enfermedad a partir de las 50 repeticiones. Otra enfermedad característica es la distrofia miotónica en la que el triplete que se repite es CTG y su rango normal está entre 5 y 27 repeticiones y la enfermedad comienza a partir de las 50 repeticiones en su forma leve y a partir de las 100 en su forma grave.

Un caso particular es el del retraso mental ligado al X por X-frágil. Como ya se citó previamente, esta enfermedad fue muy bien estudiada no solo por ser la causa más frecuente de retraso mental en los varones después del síndrome de Down, sino por cómo se pudo encontrar un marcador citogenético que facilitaba el diagnóstico, un cromosoma X con una zona frágil en la zona terminal de los brazos largos, de ahí su nombre. En la etapa de diagnóstico molecular se descubrió que el gen causante de este retraso mental es el gen *FMR1*, obviamente localizado en el cromosoma X, que tiene el triplete de repetición CGG, cuyo rango normal está entre 5 y 50 repeticiones y en los varones afectados está por encima de las 200 repeticiones.

Lo curioso de esta enfermedad es que obligó a acuñar una nueva palabra, premutación, para definir al individuo que tenía entre 60 y 200 repeticiones. El concepto de premutación fue introducido

por Pembrey y col en 1985 para explicar que «el acontecimiento final que origina el síndrome de retraso mental es precedido por una mutación que no causa daño pero que predispone al hecho final, en otras palabras, una premutación» (346). Estos individuos premutados, tanto varones como mujeres, son normales pero el gen es inestable, de forma que aumenta considerablemente el número de repeticiones cuando pasa a través de la meiosis femenina, por lo tanto las mujeres premutadas, que son normales, tienen un riesgo alto de tener hijos varones con retraso mental, con más de 200 repeticiones. Este riesgo está en relación con el número de repeticiones de la premutada, de forma que en aquellas mujeres que pasan de 100 repeticiones, la posibilidad de que sus hijos tengan más de 200 repeticiones es muy alta, más que las de las premutadas con 70 repeticiones. Esta enfermedad, ligada al X ya que el gen *FMR1* está localizado en el cromosoma X, también la padecen, aunque en menor proporción y grado, las mujeres ya que dependerá de la inactivación de uno de los cromosomas X.

## **Medicina predictiva**

### *Oncogenética*

Desde hace más de 25 años, tras la revolución que supuso conocer que el cromosoma Philadelphia no solo era un traslocación cromosómica sino un gen de fusión que era el causante de la leucemia mieloide crónica, se han descubierto más genes de fusión que juegan un papel central en las leucemias y en los sarcomas, pero se pensó que estaban limitados a este tipo de tumores. Esta limitación fue debida a la dificultad de realizar estudios citogenéticos en tumores sólidos. Con la mejora en las técnicas de citogenética molecular, fundamentalmente el *array painting*, y nuevos métodos de secuenciación, ahora es posible observar traslocaciones, inversiones, deleciones cromosómicas en tumores sólidos de origen epitelial como el cáncer de próstata, el de mama, el colorectal o el de pulmón, posibilitando el descubrimiento de nuevos genes de fusión.

Los genes de fusión se pueden considerar mutaciones cancerígenas excepcionalmente poderosas ya que tienen múltiples efectos tales como el cambio de expresión de un gen, la eliminación de dominios de regulación, el cambio de la localización subcelular de una pro-

teína o la fusión de nuevos dominios de unión. Esto hace que clínicamente se clasifiquen o se traten determinados tumores de acuerdo a la presencia o ausencia de determinado gen de fusión. Como los genes de fusión suelen ser específicos de un tumor, son unas excepcionales dianas terapéuticas como en la leucemia promielocítica que cuando tiene el gen de fusión *PML-RAR $\alpha$*  se trata con ácido retinóico, o la leucemia mieloide crónica que con el gen de fusión *BCR-ABL* presente se trata con Glivec.

Estos genes de fusión y los medicamentos que los inhibían tenían que ver con las leucemias. Todo cambió en 2005, cuando Tomlins (347) y col describen que la mitad de los cánceres de próstata tienen un gen de fusión, *TMPRSS2-ERG*, inmediatamente se descubre otro gen de fusión en el 5 % de los tumores de pulmón, el *EML4-ALK*. Ahora se sabe que existen genes de fusión muy recurrentes en los tumores de origen epitelial como los ya citados o *SLC34A2-ROS* en los tumores de pulmón de células pequeñas.

Según Paul Edwards (348), la mayoría de los genes de fusión conocidos en los tumores sólidos no proceden de traslocaciones cromosómicas, como los descubiertos en las leucemias, sino de reajustes intracromosómicos que son difíciles de detectar con los procedimientos citogenéticos convencionales. Los genes que más frecuentemente toman parte en estas fusiones, además de los controladores de transcripción o los de tirosín-quinasa típicos de las leucemias y linfomas, hay otros como los de señalización antiapoptótica.

Pero no todos los genes de fusión crean una función nueva, hay genes que simplemente no tienen función o aquellos en los que se pierde la función que tenían los genes originarios, así se ha descrito la pérdida de función del gen *FHIT* en el cáncer de mama o la fusión, también en el cáncer de mama, que expresa menos cantidad de NGR1.

La transformación de una célula normal en cancerosa es un proceso multietapa, casi todos estos pasos se adquieren mediante cambios genéticos en el genoma de la célula que se van acumulando progresivamente, unido a modificaciones epigenéticas. Pero estos cambios no ocurren en todos los genes sino en unos pocos conocidos como oncogenes y genes supresores de tumores. Los primeros son genes del desarrollo embrionario que adquieren este carácter oncogénico por fenómenos de amplificación, son mutaciones con carácter dominante a nivel celular. Por el contrario los genes supresores de tumores son necesarios para el normal funcionamiento de la célula y tienen un carácter recesivo a nivel celular lo

que hace que sea necesaria la mutación o pérdida de función de los dos alelos para que la célula adquiriera características tumorales. La acción de los genes supresores de tumores fue lo que hizo que Knudson (349) emitiera su teoría del doble impacto en 1993. De aquí la importancia de la pérdida de heterocigosidad (LOH), ya que en aquellos casos en los que está delecionado uno de los alelos solo es necesaria la mutación en el otro alelo, por eso en la década de los 90 los análisis de pérdida de heterocigosidad se utilizaron para localizar estos genes.

Entre las herramientas genómicas que han supuesto un avance considerable en la comprensión de la biología del cáncer y su tratamiento están los array de CGH, los arrays de expresión de ARN mensajero y el cribado de mutaciones. Con estas herramientas se ha conseguido descubrir numerosos genes que están alterados en el tejido tumoral. Sin embargo, estos genes pueden tener un papel en la oncogénesis o simplemente ser casuales, sin significación patológica o biológica relevante.

La utilización de los array para observar el perfil genético de un tumor y compararlo con su perfil clínico-patológico, su pronóstico y su respuesta terapéutica ha servido para identificar genes implicados en los diferentes pasos, sobre todo los que tienen un significado de agresividad o de capacidad metastatizante, de forma que servirían como marcadores pronósticos por un lado y dianas terapéuticas por otro lado. El censo actual de genes de cáncer que están listados en la página web del instituto Sanger ([www.sanger.ac.uk/genetics/CGP](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP)) es el siguiente: de un total de 428 genes, 385 corresponden a mutaciones somáticas, 301 están caracterizados por una traslocación. En resumen, más del 1% de los genes humanos están implicados en el cáncer, de los que 90 % son mutaciones somáticas, 20 % mutaciones germinales y 10 % mutaciones tanto germinales como somáticas.

La tumorigénesis es un proceso complejo multipaso en el que la mayoría de los cánceres alcanzan las mismas capacidades funcionales durante su desarrollo y su progresión aunque desde diversos mecanismos. Uno de los papeles importantes actualmente en estudio es el de los micro-RNAs que regulan diversos aspectos de la biología del cáncer como la autosuficiencia en las señales de crecimiento, la insensibilidad a las señales anticrecimiento, la apoptosis anormal, los límites en el potencial de replicación, en la inducción de angiogénesis, en la capacidad de invasión y en la metastatiza-

ción. Parece que uno de los papeles más importantes de los microRNAs estaría en la regulación de la expresión de muchos genes que intervienen en las glándulas endocrinas lo que incidiría en los tumores endocrinos y en los tumores hormonodependientes (350).

Una de las aproximaciones más novedosas en oncogenómica son los estudios a gran escala denominados «*cross-species*», que se logra combinando los datos obtenidos en tumores humanos con arrays de CGH de alta resolución con los datos de tumores en ratones conseguidos con elementos insercionales como los virus. Se sabe que es posible inducir tumores en ratones insertando elementos como virus y trasposones que alteran la regulación la función génica o se integran cerca de un gen de cáncer, de esta forma se marcan los genes implicados en el cáncer facilitando su identificación. Los estudios *cross-species* integran los datos de cáncer en humanos y en otras especies y representan una herramienta poderosa para identificar o validar genes (351).

Dada toda esta complejidad, los estudios deben de hacerse en red para poder avanzar más rápido. Uno de los mayores retos en este momento es cómo integrar la ingeniería molecular y computacional para predecir sistemas complejos y altamente heterogéneos como la tumorigénesis y la metástasis. La utilización de todo el potencial molecular permitirá avanzar en el conocimiento de las señales intracelulares, conocer cómo operan dentro de las diferentes vías de la célula y cómo interaccionan las células heterogéneas de un tumor primario y sus metástasis asociadas. En resumen la comprensión de cómo un tumor sólido funciona como un sistema biológico completo y autónomo y se relaciona con sus metástasis y con las diferentes variables de las células de los tejidos huésped, como las mutaciones hereditarias que predisponen al cáncer, la exposición ambiental a carcinógenos y el estilo de vida, tendrá un importancia fundamental en la Medicina y conseguirá desarrollar nuevos y más eficaces biomarcadores (352).

Por último, una estrategia nueva en inestabilidad genómica y cáncer es la de los telómeros. Los telómeros, zona terminal de los brazos cromosómicos compuesta por ADN repetitivo, clásicamente se relacionaban con la «edad» de la célula y con la estabilidad de la estructura del cromosoma. Básicamente, la relación con la edad de la célula venía dada por el hecho de que los telómeros se van acortando a medida que la célula se divide hasta que quedan agotados y la célula entra en apoptosis, de forma descriptiva, los teló-

meros son el contador del número de divisiones permitidas a una célula, salvo que la telomerasa regenere los telómeros algo que ocurre en el cáncer. Por otro lado, la función del telómero es mantener la estabilidad y la integridad del cromosoma. Recientemente se ha visto que los telómeros juegan un papel importante en la regulación de la reparación del ADN, por ejemplo se empieza a saber cómo los telómeros bloquean las reacciones injustificadas de reparación de ADN e impiden que los señalizadores detecten el daño del ADN. Se abre un campo nuevo de conocimiento que lleva a considerar cual es el papel de la telomerasa en la enfermedad y en el cáncer y de qué forma se regula.

### *Biomarcadores*

Después del boom de los estudios de mutagénesis ambiental cromosómica que se realizó en las décadas de los 70 y 80, un hecho intrigaba a la comunidad científica: ¿cuál podía ser el significado para el futuro de un individuo? o ¿cual podía ser el valor predictivo, si lo había, de las anomalías cromosómicas que se observan como daño inducido por agentes genotóxicos? Ya Nichols (353) se había planteado en 1973 si las anomalías cromosómicas podían servir como un test o indicador de mutaciones génicas. Para las radiaciones ionizantes las evidencias las había reportado Sparrow en 1961 (205) observando un aumento lineal de mutaciones y anomalías cromosómicas con radiación ionizante. Con los agentes químicos posteriormente se observó que también era así (206), pero no daba respuesta a cual podía ser el impacto sobre la salud.

En este sentido, han resultado clarificadoras las numerosas publicaciones de los grupos de Hagmar y Bonassi quienes revisan a posteriori los datos de estudios de diferentes cribados realizados en poblaciones normales escandinavas e italianas. Estos trabajos se apoyaron en el estudio poblacional de escandinavos e italianos, realizados para conocer el rango basal de aberraciones cromosómicas, SCE y micronúcleos en poblaciones normales. Años después se revisó el estado de salud de los individuos que habían participado en esos estudios.

Analizando el estado de salud y las curvas de supervivencia, se observó que la tasa de roturas cromosómicas tiene una correlación positiva con el cáncer (354), correlación que también tienen los micronúcleos en estudios más recientes (355).

La genética toxicológica pretende identificar y cuantificar los agentes genotóxicos ambientales que potencialmente pueden ser peligrosos para el hombre. Parte de los estudios se han realizado analizando poblaciones expuestas a dichos agentes. Para monitorizar a estas poblaciones se analizan diversos efectos que tienen que ver con la interacción agente genotóxico-hombre. Los biomarcadores son los indicadores de los acontecimientos moleculares y celulares que pueden ayudar a los epidemiólogos a examinar mejor las relaciones entre los riesgos ambientales y sus efectos en la salud humana. Los biomarcadores se pueden clasificar en tres categorías: biomarcadores de exposición, biomarcadores de susceptibilidad y biomarcadores de efectos tempranos. Los biomarcadores de exposición, que analizan las vías de exposición y la ruta metabólica, son los que determinarán la dosis interna y la dosis biológica eficaz. Los biomarcadores de efectos tempranos, que son los que aquí se describen, se refieren fundamentalmente a aquellos que muestran una respuesta biológica temprana que puede detectarse por métodos genéticos, más concretamente por métodos citogenéticos: las aberraciones o roturas cromosómicas, las traslocaciones estables, los micronúcleos y los SCE. Por último, los biomarcadores de susceptibilidad están encaminados a descifrar la variabilidad de respuesta de unos individuos a otros, generalmente lo que estos biomarcadores determinarán es la capacidad de reparación del ADN y las diferencias en el metabolismo dependientes de los diferentes polimorfismos implicados en el metabolismo de los agentes genotóxicos (356;357).

Los biomarcadores de efecto temprano se han utilizado para monitorizar poblaciones expuestas a agentes genotóxicos (358), pero al mismo tiempo se han utilizado en poblaciones normales como predictores de cáncer, existiendo actualmente un proyecto colaborativo europeo «Cytogenetic Biomarkers and Human Cancer Risk», que ha incluido mas individuos en los estudios citados más arriba (359) por lo que además de las cohortes nórdica e italiana, ahora se incluyen gupos de población de Chequia, Hungría, Lituania, Polonia, Eslovaquia y Croacia y en el que las roturas cromosómicas siguen mostrándose como un marcador eficiente de cáncer (360).

## **Herramientas moleculares**

La genética médica, a medida que las necesitaba, ha ido propiciando una serie de herramientas que han permitido el ingente pro-

greso del estudio molecular del genoma pero que también ha «contaminado» todos los campos de la medicina hasta llegar a lo que hoy se conoce como la medicina molecular que, por supuesto, usa las mismas herramientas.

Estas herramientas son:

- Enzimas de restricción
- Amplificación del ADN
- Hibridación del ADN
- PCR
- Microarrays

Estas herramientas facilitaron los siguientes procedimientos:

- Mapeo de genes mediante RFLPs desde 1980
- Clonación posicional (fibrosis quística en 1988 y X-frágil en 1990)
- Detección de mutaciones y establecimiento de la correlación genotipo-fenotipo en la fibrosis quística

Las enzimas de restricción cortan la molécula de ADN en sitios específicos reconociendo determinadas secuencias de bases. Así lo describieron por primera vez en 1971 Danna y Nathans (361). Este reconocimiento y corte hacía que se convirtiera la larga molécula de ADN en piezas manejables (RFLPs, *restriction fragment length polymorphisms*) y, debido al corte de secuencias específicas, posibilitaba el reconocimiento de variaciones individuales en la molécula de ADN.

La amplificación del ADN fue el segundo hito en el avance de la biología molecular y permitió el análisis de los genes humanos. Esta amplificación se consiguió introduciendo pequeños trozos de ADN humano en los cromosomas circulares de bacterias, consiguiendo la multiplicación de estos trozos de ADN con la replicación bacteriana. Posteriormente se perfeccionó esta técnica utilizando los cromosomas artificiales de bacterias y levaduras, BACs (*bacterial artificial chromosomes*) y YACs (*yeast artificial chromosomes*).

El tercer hito de la genética molecular fue el de la hibridación del ADN utilizando sondas de ADN marcadas radiactivamente que al hibridar señalizaban la secuencia complementaria en la molécula de ADN. Esta técnica permitía observar la ausencia o alteración de una secuencia, mediante el patrón de bandas de hibridación, descrito en 1975 por Southern (333), de quien proviene el nombre del procedimiento técnico: Southern blotting.

Hubieron de pasar diez años hasta que Kary Mullis y col (362) en 1986 descubrieran la capacidad de la polimerasa que posibilitó la técnica más empleada y conocida de la biología molecular, la PCR (*polymerase chain reaction*).

Estas técnicas, junto con la más novedosa de los microarrays de CGH, de expresión, etc. han posibilitado una serie de procedimientos cruciales en el desarrollo de la genética médica primero y la medicina molecular después.

El manejo de los RFLPs fue esencial en el mapeo de genes de enfermedades mendelianas, procedimiento que se utilizó en la predicción de las enfermedades hereditarias humanas y que se realizó en la década de los 80, justo antes de que comenzara el proyecto genoma humano. Cabe destacar los enormes esfuerzos que alcanzaron el éxito en enfermedades tales como la fibrosis quística, la neurofibromatosis, la distrofia muscular o el corea de Huntington. Pero para poder realizar predicciones genéticas con los RFLPs como marcadores, se necesitaban cálculos matemáticos sobre ligamiento, lo que hizo que los departamentos de genética se hicieran multidisciplinarios. Como dice Harper (2), al comienzo de 1990, la situación era parecida a lo que había ocurrido con la citogenética 30 años antes: los procedimientos de genética molecular con marcadores habían facilitado el diagnóstico de un número considerable de enfermedades hereditarias graves.

El clonaje posicional fue un método que permitió aislar un gen sin conocer nada acerca de él ni de su función, simplemente sabiendo cual era su posición definida por marcadores cercanos. Esto fue posible gracias al manejo de secuencias grandes de ADN con BACs y YACs y a la electroforesis pulsada en gel. El primer gen de una enfermedad hereditaria aislado mediante el clonaje posicional fue el de la fibrosis quística en 1989 por Kerem y col. (363).

Hacia la mitad de la década de los 90, ya se habían descubierto y aislado numerosos genes de enfermedades hereditarias, por lo que ya era posible analizar las diferentes mutaciones y su resultado en el curso clínico de la enfermedad en cuestión. Evidentemente, esta correlación, cuando la había, entre genotipo y fenotipo solo era posible en aquellas enfermedades en las que el gen tenía diferentes tipos de mutación como es el caso de la distrofia muscular de Duchenne, a diferencia de otras enfermedades como el corea de Huntington, en que la mutación era única. La correlación genotipo-fenotipo tiene ejemplos muy conocidos como la mutación  $\Delta F508$

que determina la forma más grave de la fibrosis quística o las mutaciones en determinado dominio del gen BRCA1 que predice la aparición de cáncer de ovario junto con el de mama. Como no podía ser de otra forma, la cantidad de información que genera cada día la correlación genotipo-fenotipo, solo se puede manejar con una base de datos de carácter global o mundial, la HGMD (*Human Gene Mutation Database*) que en agosto de 2010 tenía 102.433 mutaciones registradas (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>).

El mejor conocimiento de las mutaciones no solo se quedó en la correlación genotipo-fenotipo, sino que también se descubrió que las mutaciones no estaban confinadas exclusivamente a la secuencia codificante, sino que podían estar en zonas reguladoras en los intrones. Por último, el concepto mutación se amplió a aquellas que englobaban a varios genes, lo que ocurre en los síndromes de genes contiguos.

Más sorprendente fue el descubrimiento de las mutaciones dinámicas, originadas por trinucleótidos de repetición inestables que explicaron el fenómeno de anticipación.

### *Farmacogenética y farmacogenómica*

El documento «Farmacogenómica: Medicina Personalizada y Predictiva» editado por la Fundación Genoma España en abril de 2009 define estos términos de la siguiente manera: la Farmacogenómica se define como la investigación de las variaciones del ADN y ARN en relación con la respuesta a los fármacos, y la Farmacogenética como una parte de la Farmacogenómica que estudia la influencia que tienen las variaciones en la secuencia del ADN sobre la respuesta a los fármacos. Por su parte, en el documento «Genomic Medicine» publicado por la cámara de los Lores en 2009 la definición que se propone es como sigue: Farmacogenética es el estudio de cómo un determinado gen o un número pequeño de genes afectan al metabolismo de los fármacos o a su respuesta. Farmacogenómica es el estudio de la forma en la que la variación genética afecta al metabolismo de los fármacos o a su respuesta.

La Farmacogenética trata de personalizar el tratamiento farmacológico y así optimizar la eficacia del fármaco reduciendo la frecuencia de las reacciones adversas. Se conoce bien que la mayoría de los fármacos actúan efectivamente en una minoría de pacientes

y los médicos confían en los ensayos clínicos a la hora de prescribirlos. Una forma de mejorar la eficacia de los medicamentos es utilizando pruebas genéticas para distinguir a los «respondedores» de los «no respondedores», por ejemplo el uso de Glivec en la leucemia mieloide crónica o la Herceptina en el cáncer de mama. Estos test genéticos pueden ser la forma más efectiva para establecer programas de tratamiento personalizado y, de esta forma, aumentar el número de pacientes que responden a una terapia determinada con lo que se conseguirá reducir costes en el tratamiento de forma generalizada.

La Farmacogenómica es el estudio de la forma en la que la variación genética de los individuos afecta al metabolismo y a la respuesta de los fármacos. Se puede utilizar para desarrollar pruebas encaminadas a clasificar o a estratificar a los pacientes en diversos grupos de acuerdo a su respuesta al tratamiento. Los test farmacogenómicos son, por lo tanto, aquellos que se pueden realizar para personalizar el tratamiento de un paciente.

En los últimos 10 años, el campo de la Farmacogenética y farmacogenómica ha centrado el debate de cómo se puede mejorar la salud de forma individual. Las nuevas tecnologías, basadas fundamentalmente en la genómica, y su aplicación en la investigación clínica, han producido suficiente información acerca de las interacciones fármaco-gen como para que ahora estén listas para la traslación a la práctica clínica. Pero ¿cómo se puede constatar la efectividad clínica de un biomarcador farmacogenómico?, el biomarcador se debe de evaluar replicando las condiciones médico-ambientales en las que la mayoría de los pacientes están siendo tratados.

## **SIGLO XXI: TRANSVERSALIDAD Y FUTURO**

Al inicio de la década de los 90, la Genética Médica había logrado hacerse un nicho en la Medicina, tenía enfermos propios, laboratorios específicos, hacía diagnósticos prenatales y consejos genéticos, había progresado paulatinamente aumentando su cartera de servicios y había conseguido un espacio propio dentro de las especialidades médicas.

Con el proyecto genoma y su continuación en los proyectos HapMap y Encode, se crean y se generalizan herramientas y argumentos para efectuar una medicina molecular. A partir de ese momen-

to, la genética pasa a ser una actividad médica transversal, participando en el estudio y manejo de enfermedades comunes, de comienzo tardío y, sobre todo, con un carácter netamente preventivo cuando no predictivo.

De esta forma en el siglo XXI se amplía el campo de la genética pero se pierde definición en sus límites, haciendo que las fronteras sean cada vez más borrosas. Es el comienzo de la medicina genómica, que se puede definir como el uso rutinario de los análisis de genotipado, habitualmente en forma de pruebas de ADN, para aumentar la calidad de la medicina.

La visión de la medicina genómica que se tenía en 1998 era la siguiente: El valor potencial del genotipado a nivel poblacional en la práctica médica influirá de forma que se verá cómo las mutaciones antiguas, en el sentido genealógico, contribuyen en los factores de riesgo de las enfermedades comunes del adulto. Cuanto mas grande sea el papel de las mutaciones antiguas, mayor será el poder de escanear los genotipos de riesgo y así desarrollar actuaciones específicas. De esta forma se identificarán los riesgos para conseguir importantes beneficios en la prevención de las enfermedades del adulto, entre los que estaría también la farmacogenómica (364).

### **Genética personalizada: hacia una medicina preventiva**

La salud es el estado de un bienestar completo de cuerpo y mente, tanto físico, como mental y social. Aunque también puede definirse la salud como la ausencia de enfermedad detectable. En cualquier caso también se puede ver a la salud dentro de la entropía humana o del envejecimiento natural, de forma que a medida que se va avanzando en la edad se pierde energía hasta llegar al estado inerte.

Pero ¿qué es salud genética?

1. ¿Se refiere a que en el genoma de un individuo no hay genes que producen o predisponen a una enfermedad?
2. ¿O se refiere a que un individuo no tiene una enfermedad que esté relacionada con los genes?

Si todas las funciones químicas y fisiológicas del cuerpo están relacionadas con la función de los genes, la salud estará directa-

mente relacionada con los genes. No obstante, hay enfermedades originadas por agentes externos cuya acción también estará modulada por determinados genes.

¿Se puede hablar, por lo tanto de genes malos? No siempre será así ya que hay ejemplos como el de la talasemia cuyo gen en estado homocigoto es capaz de producir una enfermedad pero en estado heterocigoto protege a los individuos de la malaria. Más recientemente, se piensa que la alta prevalencia de la celiaquía en el medio occidental, 1-2% de la población a pesar de sus efectos adversos sobre la salud, puede ser debida a que algunos genes predisponentes tienen una ventaja selectiva, posiblemente protegiendo de las infecciones bacterianas (365).

Otra pregunta interesante es ¿a los portadores de una mutación recesiva o las mujeres portadoras de una mutación recesiva ligada al X, se les considera genéticamente enfermos o malsanos? Evidentemente, desde un punto de vista estrictamente sanitario ellos son personas sanas, no tienen ninguna enfermedad pero son capaces de transmitir su o sus genes alterados y eventualmente tener descendientes enfermos cuando se han casado con otro portador. Conviene recordar que se considera que todos portamos entre 1 y 16 alelos deletéreos recesivos, excluyendo aquellos genes de efecto menor o predisponentes de enfermedades comunes. Por esto merece la pena introducir el concepto de salud genética reproductiva que se refiere a que no aparecerán descendientes afectados de enfermedades genéticas. De acuerdo con esto solo serían genéticamente enfermos los portadores de alelos dominantes o alelos ligados al X en varones. El resto tendrían un riesgo reproductivo que dependería de la combinación de genes de acuerdo con el genoma de su pareja.

Un tercer nivel a considerar es de la salud genética poblacional, que tendría en cuenta aquellas poblaciones en la que la proporción de portadores de genes de determinadas enfermedades es más alta de la cifra normal, en cualquier caso este concepto es difícil de evaluar ya que si se acepta que determinados estados genéticos pueden conferir una ventaja selectiva, en un sentido global, lo que puede parecer una disminución de la salud desde el punto de vista genético puede significar una mejor adaptación al ambiente y por lo tanto, una mejor salud, de forma generalizada (366).

## La era postgenómica

La versión final de la secuenciación del genoma apareció a finales de 2004. Esta secuencia, que excluía la heterocromatina, cubría el 99 % de la eucromatina y contenía 2.850 millones de nucleótidos. Se supone que hay 341 lagunas sin secuenciar que corresponderían a elementos duplicados y que probablemente requerirán nuevos métodos de secuenciación. Este proyecto ha servido para identificar genes y para entender cómo están organizados y cómo se regulan.

Una de las mayores dificultades en la traslación del conocimiento es hacer notar que la secuencia del genoma no es un catálogo de genes. Es una cadena muy larga de cuatro bases con muy pocos signos de puntuación, que contiene «palabras» solapadas mezcladas con grandes cantidades de frases sin significado aparente.

Conocer el significado del genoma es tarea harto difícil, se sabe que hay alrededor de 23.000 genes que codifican proteínas, pero esto es solo el 1% del genoma, del resto se sabe que el 45 % son secuencias repetitivas, el 5 % duplicaciones segmentarias, y el 3 % corresponde a microsatélites y minisatélites. Por lo tanto, casi la mitad del genoma son secuencias repetitivas, algunas se sabe que tienen una función, como los genes del ARN ribosómico. Hay secuencias repetitivas que derivan de los denominados transposones y que se subdividen en LINEs, SINEs y LTR según su estructura. Esta gran diversidad del genoma y, por lo tanto, variabilidad, hace que no haya dos individuos de la especie humana que tengan una secuencia genómica completa igual.

En 2006, Bradley y col (367) escriben lo siguiente «Los humanos son muy similares genéticamente, de media, dos personas no relacionadas difieren solo en un nucleótido de cada mil. En otras palabras, las personas son 99,99 % idénticas. Aunque la diferencia de 0,1 % parece insignificante, corresponde a millones de nucleótidos (0,1 % de  $3 \times 10^9 = 3$  millones) y es la responsable de la variación humana. Obviamente, estas diferencias se pueden combinar para producir enormes diferencias en salud».

Considerando la variación en la especie humana, en el punto de mira están los SNPs. Ya al finalizar el proyecto genoma se conocían unos 3,7 millones de SNPs. El conocimiento y descripción de los SNPs facilitó extraordinariamente la tarea de comparar genomas ya que se podían analizar las diferencias entre personas o grupos de población sin necesidad de secuenciar grandes segmentos. Aunque

los SNPs se heredan, no siempre lo hacen independientemente ya que pueden segregarse en bloques, denominados haplotipos. Esto facilitó el siguiente paso en el análisis genómico: el proyecto internacional de mapeado de haplotipos humanos (HapMap) que intenta identificar los haplotipos humanos más comunes permitiendo que determinados SNPs que se asocian con haplotipos específicos se puedan utilizar para identificar dichos haplotipos que serán utilizados en estudios de asociación.

A diferencia de las enfermedades puramente hereditarias, esto es, monogénicas o mendelianas, la mayoría de las enfermedades comunes pueden ser multifactoriales. Son enfermedades en las que hay una agregación familiar pero en las que los factores ambientales forman parte importante de la etiología y de la etiopatogenia. En las enfermedades multifactoriales intervienen numerosos genes con diferentes penetrancias o pesos dentro de la enfermedad. Hasta el proyecto genoma, la forma de estudio era el ligamiento génico en el que se establecían las relaciones de proximidad (desde el punto de vista de segregación) de marcadores genéticos con una enfermedad determinada. Esta metodología tuvo un gran éxito en el descubrimiento de enfermedades monogénicas pero poca influencia en el de las enfermedades multifactoriales. Por ello en el siglo XXI se han generalizado los estudios de asociación que determinan la frecuencia de un marcador genético entre individuos no relacionados y su asociación estadística con una enfermedad determinada. Al no necesitar familias enteras, a diferencia de los estudios de ligamiento, es más fácil realizarlos.

### *La Genética y la Medicina en la era postgenómica*

¿Por qué la Genética es importante en la Medicina? Ahora en la era postgenómica, donde los análisis genómicos pueden ayudar a cualquier especialista médico, los genetistas pueden enseñar a los médicos cómo comunicarse con sus pacientes pasándoles lo más útil de la enorme cantidad de información genética existente, pero al mismo tiempo los genetistas deben rediseñar los servicios en base a la demanda creciente de consejo genético.

Esto que parece obvio, debe de contextualizarse en la sociedad actual, para ello tenemos la obligación de deshacer determinados equívocos acerca de la genética, que provocan miedos hacia la nueva tecnología, comenta Clarke Fraser en 2001 (368).

Uno de los miedos es la discriminación genética, pero en realidad no es la genética la que puede discriminar sino que solo es el mensajero, ya que la genética es la que ayuda a diagnosticar la enfermedad discriminada.

Otro de los miedos es el de que realizar una prevención de las enfermedades genéticas terminará alterando la dotación genética de la especie humana, lo que llevará a posibles desastres no previstos. A través del diagnóstico prenatal se terminará por erradicar los genes «malos» pero también discriminará a los discapacitados. Evidentemente los genetistas debemos luchar contra la discriminación de las discapacidades y de los discapacitados pero no rechazando los métodos de diagnóstico como el diagnóstico prenatal. En cualquier caso este tipo de diagnóstico va a tener escasos efectos sobre el pool de genes humanos.

Otro miedo es el concerniente a que la genética consiga que se puedan elegir características de mejora de la especie humana, lo que conllevaría a una discriminación y a la alteración de la naturaleza humana. La primera razón por la que este tipo de miedo debe de ser desechado es que los rasgos normales son tan complejos desde el punto de vista genético que es muy difícil que se pueda llegar a manipularlos. Simplemente, un rasgo que pueda deberse a la acción de 4 genes cuya transmisión sea dominante, a la hora de realizar una selección de embriones, solo sería adecuado para el rasgo beneficioso un embrión de cada 16.

Un cuarto miedo, continúa Fraser, es el de que la terapia génica «limpiará» el pool genético y reforzará las cualidades «normales», lo que podrá tener efectos inesperados y desastrosos. La realidad es que la terapia génica, cuando esté disponible, podrá curar las enfermedades surgidas por una mutación, pero no alterará las células germinales, además de que muchas mutaciones son de novo y seguirán apareciendo.

Desde el punto de vista de los médicos, el miedo se dirige al hecho de que la genética terminará cambiando la práctica de la medicina. Esto ya ha ocurrido, ahora los médicos pueden diagnosticar más y mejor e incluso conocer en algunos casos qué individuos están en riesgo de padecer una enfermedad. En cambio, la posibilidad de que cada persona tenga su perfil genético en un chip o éste se pueda leer fácilmente con una única gota de sangre, a partir del cual se sabrá qué enfermedades va a tener esa persona y como evitarlas, está aún lejos de ser una realidad.

## *Polimorfismos (SNPs), Proyecto HapMap*

El proyecto genoma humano ha suministrado una cantidad enorme de nuevos conocimientos, muchas veces totalmente inesperados, que ha sido altamente beneficioso para la genética humana y la genómica. En 1997 se inició el *Environmental Genome Project* (EPG) como una continuación colateral que complementa, pero también se solapa con el proyecto genoma humano. Este nuevo proyecto fue posible gracias a que se observó un fenómeno común en las levaduras, en los gusanos o en la mosca, la sustitución de un único nucleótido, lo que se denominó *single-nucleotide polymorphisms* (SNPs) y que al final de los 90, dio lugar a lo que se conoce como la fiebre SNP (162). A partir de ese momento, han aparecido cientos de publicaciones encaminadas a encontrar una relación significativa entre uno o varios SNPs y una enfermedad común, como el Alzheimer, el asma o la esquizofrenia. En esta búsqueda, la piedra filosofal sería el «genotipo inequívoco» o el genotipo en que no cabía ningún error de asignación, pero factores como la heterogeneidad alélica, la heterogeneidad de locus o la genocopia han impedido encontrar este tipo de genotipo en las enfermedades comunes multifactoriales.

El proyecto internacional denominado HapMap está encaminado a identificar sistemáticamente un gran número de SNPs y a genotiparlos en diferentes grupos de población correspondiente a tres continentes, calculando los niveles de asociación genética entre los marcadores cercanos. El resultado final de este proyecto servirá para diseñar los microarrays que se emplean para los estudios de asociación genómica. Este proyecto que comienza en octubre de 2002, ha incluido el estudio de los Yoruba de Nigeria, los japoneses de Tokio, los chinos de Beijing y los americanos de Utah que tienen antepasados caucásicos del norte y centro de Europa (369). Ha habido intentos de extender el proyecto HapMap a otros grupos de población de dos áreas geográficas importantes, aborígenes de Oceanía y amerindios de América.

Al finalizar la fase I de este proyecto, los datos aportados contenían más de un millón de SNPs procedentes de 270 individuos. En la fase II se ha aumentado la densidad del genotipado de forma que se intenta buscar un SNP por cada kilobase. Actualmente, en la fase III, hay descritos más de 24 millones de SNPs. Los detalles y datos del proyecto HapMap pueden consultarse en <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>.

## ENCODE

Otro de los proyectos diseñados en el marco de un consorcio internacional es el proyecto ENCODE (*Encyclopedia Of DNA Elements*) que comienza en septiembre de 2003 para identificar todos los elementos funcionales de la secuencia del genoma humano. El proyecto ENCODE engloba a cientos de investigadores localizados en más de 80 instituciones a lo largo de todo el mundo e intenta estudiar el genoma humano en gran detalle y mapear una gran variedad de secuencias, ya sean genes codificantes o no, promotores, potenciadores, represores, silenciadores, sitios de inicio y terminación de replicación, transcritos de ARN, sitios de unión de factores de transcripción, sitios de metilación y sitios de modificación de cromatina. Aunque lo primero que hizo fue evaluar las técnicas, las tecnologías y las estrategias disponibles para desarrollar posteriormente nuevas herramientas de alto rendimiento que permitieran alcanzar los objetivos propuestos.

El proyecto piloto eligió una secuencia de 30 MB, aproximadamente el 1 % de todo el genoma, Todos los datos generados por el proyecto ENCODE en esa zona pequeña se hicieron públicos inmediatamente en forma de bases de datos.

Algunos de los hallazgos importantes del proyecto ENCODE según Nebert y col. (162) incluyen el solapamiento de transcritos y muchas regiones no codificantes, redes complejas de transcritos que hicieron tambalear el concepto de unidades de transcripción, nuevos sitios de inicios de transcritos que revelaron una mayor complejidad de las secuencias de regulación, regulación de genes en *cis* y *trans* que pueden ser controladas por factores que están en diferentes cromosomas, interacciones entre la estructura de la cromatina y la regulación de la transcripción y replicación y, finalmente, observar inesperadamente que el 60 % del ADN está en «evolución obligada». Nebert y col continúan escribiendo que el proyecto ENCODE ha cambiado el concepto de lo que es un gen; hace 7 años estaba claro que el gen como unidad debía incluir todo lo que estaba por encima de 5', fundamentalmente elementos de regulación, y lo que estaba por debajo de 3', también elementos de regulación. Por consiguiente, algunos genes se solapan con otros genes, algunos genes están localizados en la otra cadena de ADN con respecto a un gen determinado y algunos genes se localizarán totalmente dentro de otro gen. Por lo tanto, la definición de un gen que había

sido «un segmento de secuencia de ADN que incluye todas las secuencias de regulación y que codifica un producto funcional, ya sea una proteína, un péptido pequeño o uno de los diversos tipos de ARN con funciones de regulación», ahora cambia y se propone que sea «una unión de secuencias genómicas que codifican un conjunto coherente de productos potencialmente funcionales que se solapan».

### *DECIPHER*

Otra de las bases de datos que se utiliza como recurso para la investigación y el diagnóstico genético, que se ha gestado siguiendo la costumbre de los consorcios internacionales de principios del siglo XXI, es DECIPHER (*Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources*) (370). Entre otros posibles, se eligió el acrónimo DECIPHER ya que en inglés esa palabra significa «descubrir el significado de».

Los avances citogenéticos de los últimos 40 años, entre otras cosas, habían conseguido que la resolución de un cariotipo convencional con bandas G que es de 5-10 Mb, pasase a ser de 100 kb o menos cuando se hace un cariotipo con un array genómico de alta densidad, un aumento en la sensibilidad de unas 50 veces. Este aumento de resolución ha hecho que los array de CGH y los análisis de CNVs se estén utilizando en pacientes con trastornos del desarrollo, dificultades de aprendizaje, cuadros dismórficos sin filiar para identificar las posibles causas, así como en enfermedades con base genómica como el Alzheimer de comienzo temprano o la leucodistrofia del adulto.

Es un proyecto que se inicia en 2004 con el propósito de servir de herramienta para ayudar en la interpretación de los datos que se obtienen tras el análisis con microarrays y poder diferenciar entre cambios en el número de copias con significado patológico con los que son simplemente polimorfismos. Es una base de datos que utiliza el mapa del genoma humano a través del navegador Ensembl para definir los genes implicados en las alteraciones observadas como microdeleciones, microduplicaciones, traslocaciones o inversiones. Además, intenta servir como marco de colaboración entre genetistas clínicos y citogenetistas moleculares para acelerar el progreso en la definición de nuevos síndromes y de funciones génicas.

Actualmente la base de datos DECIPHER (<http://decipher.sanger>).

ac.uk) es un consorcio internacional formado por más de 100 instituciones que contiene más de 6.000 casos.

En resumen, DECIPHER es una herramienta para la interpretación de los desbalances citogenéticos submicroscópicos, inversiones y traslocaciones, cataloga las variaciones en el número de copias que se encuentran en la población normal y aquellas nuevas que potencialmente tienen un significado patológico. Finalmente es una ayuda para el consejo genético ya que consigue información relevante de un gran número de recursos bioinformáticos.

## GWAS

Los estudios genéticos con la estrategia de GWAS (*genome-wide association studies*) utilizan mapas densos de SNPs que cubren el genoma humano para buscar diferencias en las frecuencias alélicas entre casos (pacientes con una enfermedad determinada o individuos con unos rasgos determinados) y controles.

Una diferencia significativa de la frecuencia de algún SNP se toma como indicador de que la región correspondiente contiene variantes de secuencias de ADN funcionales que intervienen o influyen en la enfermedad o rasgo en cuestión.

Con el desarrollo y disponibilidad de plataformas de genotipado rápido, del orden de 100.000 a 1 millón de genotipos por muestra, a un coste razonable, en abril de 2005 se realizó un workshop sobre GWAS para planificar futuros estudios con un diseño estratégico y estadístico común. Se utilizan millones de SNPs catalogados por el proyecto HapMap, determinando haplotipos en diferentes poblaciones. Todo esto permite que se puedan utilizar miles de marcadores en miles de individuos con costes asumibles.

El primer estudio de GWAS, publicado en 2002, fue el de Ozaki y col acerca de la asociación entre el gen *LTA* y el infarto de miocardio. En él se utilizaron 98.000 SNPs (371).

Estos estudios de GWAS continúan la misma estrategia que se siguió en los años 80 sobre ligamiento en desequilibrio. Esta estrategia fue muy útil en las enfermedades monogénicas y se basa en la asunción de que una mutación que se segrega en una familia, está asociada a alelos cercanos que se comparten en esa familia y representa el haplotipo del cromosoma ancestral en el que la mutación se originó. Siguiendo esta estrategia de ligamiento en desequi-

librio, se pudo localizar el gen de la fibrosis quística en 1989 por Kerem y col. (363).

Éxitos como éste, animaron a aplicar la estrategia de ligamiento en desequilibrio a las enfermedades comunes multifactoriales, utilizando parejas de familiares para buscar unos pocos genes con un efecto importante en estas enfermedades (372). Pero dada la complejidad de la herencia multifactorial, la estrategia de estudiar parejas de familiares falló ya que en vez de pocos genes con un peso importante en la enfermedad, son muchos los genes con pesos muy pequeños los que intervienen en la herencia de estas enfermedades. Por eso no es hasta que aparecen estas herramientas poderosas de GWAS cuando es posible estudiar los ligamientos en desequilibrio en las enfermedades comunes.

Las limitaciones de los estudios de asociación vienen por la magnitud de la potencia de estas asociaciones. Como se estudia la relación de un alelo con una enfermedad común entre los componentes de una familia, si el aumento de riesgo que confiere un alelo polimórfico es pequeño, el que haya un familiar enfermo puede ser debido a otra u otras causas no relacionadas con dicho alelo. Además, si la frecuencia del alelo es considerable, puede haber aparecido en de una familia a través de diferentes antepasados, lo que complica enormemente la definición de un patrón hereditario. De ahí la necesidad de estudiar un número elevado de familias.

### **Genómica masiva**

Se pensó que la genómica masiva, la secuenciación total o los estudios de asociación, servirían para hacer una buena prevención ya que serían análisis predictivos de riesgo pero la realidad es que por el momento se van a quedar en biomarcadores o indicadores de riesgo que permitan hacer un cribado de aquellas personas en las que el sistema sanitario habrá de incidir para rentabilizar su salud, más ahora que la sostenibilidad de la medicina es necesaria.

La identificación de variantes genómicas con enfermedades comunes han sido efectivas pero los loci detectados solo son capaces de explicar una mínima parte de la heredabilidad de esas enfermedades, lo que limita enormemente su capacidad predictiva en los individuos en riesgo de padecer una enfermedad multifactorial común determinada.

Si no se puede hacer una medicina preventiva individual ¿cuáles

son los rasgos de heredabilidad que quedan por descubrir? Las esperanzas están puestas, entre otras, en la herramienta que enfáticamente se denomina secuenciación de próxima generación. En una revisión reciente de Mark McCarthy (373) constata que la comunidad científica está dividida entre los que creen que la búsqueda de variantes genéticas comunes de susceptibilidad es de valor limitado ya que sus efectos son muy pequeños y los que creen que la reducción de costes en la secuenciación genómica total y el uso de muestras muy amplias de población conseguirán obtener datos valiosos.

Siguiendo a McCarthy, hay dos visiones contrapuestas en el abordaje de las variantes de susceptibilidad, la de aquellos que creen que la susceptibilidad depende de variantes comunes, entendiendo común por no infrecuente, pero cuyos efectos, de haberlos, son muy pequeños, en contraste con los que mantienen el punto de vista de que las variantes de muy baja frecuencia son las que mantienen la susceptibilidad de las enfermedades comunes. Este último punto de vista considera que los alelos raros tienen unos efectos cruciales en los fenotipos de la población que los contiene. Una evidencia que soporta este argumento sería la de los CNVs raros asociados con fenotipos de alteraciones de conducta y enfermedades psiquiátricas, en su contra está el argumento de que una variante rara lo es porque se asocia a enfermedades con bajo índice de reproducción, algo que va en contra de las enfermedades asociadas a variantes comunes pero que también tienen o han tenido una baja capacidad reproductiva como la diabetes tipo I.

Todo esto haría pensar que la secuenciación masiva puede ayudar a esclarecer la importancia y, sobre todo, la segregación de estas variantes alélicas más o menos raras, a lo largo de las generaciones. Pero en los próximos años, McCarthy continúa, en vez de conseguir ingentes cantidades de información mediante la secuenciación, esta se debe de usar cuidadosamente dirigiéndola a regiones genómicas específicas, alrededor de zonas o genes candidatos. La alternativa estaría, pues, en secuenciación de baja definición en poblaciones muy grandes o en secuenciación de alta definición en población muy seleccionada como son los extremos (las colas de la distribución) de los fenotipos que se quieren estudiar.

Ropers (374) es otro autor con una visión pesimista de lo que ha ocurrido en los últimos 15 años. Para él, todos los esfuerzos sobre las enfermedades comunes se han hecho en el sentido de buscar los factores de riesgo principales y los resultados han sido desalentado-

res. Ropers cree que hay razones para pensar que la complejidad de muchas enfermedades comunes multifactoriales se debe a su heterogeneidad genética, que es la que aún no se ha entendido. El ejemplo más extremo de la heterogeneidad sería el retraso mental, la enfermedad compleja con el coste socioeconómico más alto en las sociedades avanzadas. Se conocen al menos 300 genes diferentes que dan lugar a retraso mental, pero es probable que el número total esté alrededor de un millar y la mayoría son desconocidos.

Lo cierto es que las esperanzas puestas en los estudios de asociación genómica GWAs han fracasado en parte, los genes marcadores de estas enfermedades pocas veces se han podido replicar por lo que realmente se desconoce su importancia en la etiología de la enfermedad. Los estudios de asociación se han realizado con SNPs; la mayoría de los que resultan tener una asociación significativa están en zonas del genoma no codificantes o al menos en zonas cuya función es desconocida, esto ha hecho que se piense que en realidad estos SNPs lo que hacen es señalar las zonas en las que hay uno o varios genes en sus cercanías que son los realmente implicados en la susceptibilidad de la enfermedad. Por eso las esperanzas se pusieron en secuenciar profundamente estas zonas, pero los resultados han sido también muy pobres. Cada vez son más las veces que se alzan para decir que la hipótesis del GWAs era errónea. Esta hipótesis está basada en variantes alélicas frecuentes que tienen efectos pequeños en la predisposición de las enfermedades comunes multifactoriales. Por ello hay una hipótesis alternativa, las enfermedades comunes no están causadas por variantes alélicas frecuentes sino por variantes extraordinariamente infrecuentes pero con un poder de susceptibilidad mucho mayor.

Dickson y col. En 2010 (375) proponen que las variantes menos frecuentes pueden crear «asociaciones sintéticas» con uno de los alelos de asociación más frecuente. Aunque las asociaciones sintéticas son teóricamente posibles, continúan proponiendo, nunca se han explorado sistemáticamente para explicar los resultados de GWAs.

Lo mismo ha ocurrido con las variaciones del número de copias, CNVs, la hipótesis de variantes comunes/enfermedades comunes no ha producido resultados alentadores como lo ha demostrado el estudio de Craddock y col publicado en Nature en 2010 que presenta los resultados obtenidos a través del consorcio Wellcome Trust Case Consortium (376). Este consorcio analiza más de 10.000 CNVs

en 3.000 controles y 16.000 casos. Los casos corresponden a 8 enfermedades comunes: trastorno bipolar, diabetes tipo 1 y tipo 2, enfermedad de Crohn, enfermedad coronaria, hipertensión, artritis reumatoide y cáncer de mama. En este estudio confirman tres CNVs ya conocidos, *IRGM* para la enfermedad de Crohn, *HLA* para la enfermedad de Crohn, artritis reumatoide y la diabetes tipo 1 y *TS-PAN8* para la diabetes tipo 2. Su conclusión es que es improbable que los CNVs contribuyan de forma notoria al conocimiento de las bases genéticas de las enfermedades comunes.

Si desde el punto de vista práctico se está empezando a dudar de la utilidad de los estudios de asociación genómica masiva y del análisis de las variaciones en el número de copias, desde el punto de vista social, empiezan a surgir voces acerca de la equidad en la investigación genómica. Según publican Anna Need y David Goldstein del Instituto de Ciencias Genómicas y Política en el Centro de Variación Genómica Humana de la Universidad Duke en Durham (377), los estudios de GWAs se han concentrado fundamentalmente en población europea o de origen europeo, con individuos de antepasados africanos rara vez presentes, es lo que denominan la desigualdad genómica. Dado que estos estudios están basados en variantes, SNPs, cuya distribución y posiblemente su significado es diferente en distintos grupos étnicos, al final aumentarán las diferencias en los cuidados sanitarios, por lo que proponen el que se incluyan personas con distintos antepasados y de esta forma evitar que se excluyan a determinados grupos de población.

## **Nuevos procedimientos diagnósticos**

Antes de escribir sobre nuevos procedimientos diagnósticos en el siglo XXI, conviene hacer una consideración sobre los «viejos» procedimientos diagnósticos. ¿Siguen siendo válidos procedimientos de diagnóstico antiguos con la tecnología actual? ¿La exploración dimorfológica sigue siendo válida? ¿El árbol genealógico tienen sentido en plena era genómica?

A.J. Clarke (378) intenta dar alguna respuesta tras preguntarse si la información genómica individual hará que la información del árbol genealógico quede obsoleta. Hasta ahora se ha utilizado el árbol genealógico para la evaluación del riesgo genético y para identificar a los individuos de una familia con alto riesgo. Esto es im-

portante a la hora de decidir quiénes han de beneficiarse de las herramientas poderosas de la genética, pero el árbol genealógico no es solo esto. Un buen árbol genealógico tiene información social útil del paciente y su familia. Se obtiene información de la estructura de la familia, del conocimiento que tienen los familiares de la enfermedad, del tipo de trabajo, de las relaciones familiares, de los hábitos y estilo de vida.

Es precisamente esta última información la que puede ser trascendental cuando se están estudiando enfermedades comunes multifactoriales en las que los factores ambientales son importantes. Para Clarke el árbol genealógico tiene cuatro respuestas a las preguntas que plantea la complejidad del estudio genético de las enfermedades comunes:

Una es la información. Dado que la relación gen-medio ambiente es importante, todos los datos sobre estilos de vida, situaciones laborales, etc. que están recogidos en el árbol genealógico serán muy útiles.

Otra es el tipo de etnia o el origen geográfico de la familia, importante en la interpretación de los estudios de asociación.

Otra son los factores que modifican la expresión fenotípica o los efectos de la susceptibilidad genética, como la presión arterial o el nivel de colesterol.

Por último, los factores epigenéticos, difíciles de evaluar en los estudios de secuenciación, pero que se pueden sospechar en determinadas circunstancias tales como acontecimientos acaecidos durante la vida intrauterina o postnatal temprana.

La conclusión es que aún queda mucho para que los estudios genómicos tengan un valor predictivo individual mientras que la información obtenida de un buen árbol genealógico aun será válida durante muchos años

### *Diagnóstico prenatal y de preimplantación*

La evolución en los métodos de cribado prenatal del síndrome de Down y los avances en el diagnóstico prenatal por imagen —ecografía 2D, 3D, RMN, fetoscopia— y los test invasivos —citogenéticos y moleculares—, han jugado un papel importante en el progreso del diagnóstico fetal.

Todo el conocimiento y la tecnología surgida tras el proyecto

genoma humano han posibilitado el diagnóstico de muchas enfermedades genéticas ya presentes en el feto o que aparecerán perinatalmente y también el diagnóstico de enfermedades monogénicas de comienzo tardío como el corea de Huntington o los genes de alta penetrancia tumoral como los del cáncer hereditario de mama y colorectal.

En el siglo XX, el análisis citogenético de células fetales era el método estándar del diagnóstico prenatal. La eficacia diagnóstica del cariotipo era del 99,4-99,8 %, aunque el mayor inconveniente radicaba en la necesidad de cultivar las células, lo que retrasaba el resultado en 10-14 días. Actualmente, el cribado de aneuploidías en la mayoría de los países occidentales está en el dominio de la epidemiología y de la salud pública. El análisis en el suero materno de dos o tres analitos sumado a marcadores ecográficos objetivables y estandarizados, mas la detección ecográfica de malformaciones, ha hecho que en los últimos años se haya reducido enormemente el número de diagnósticos prenatales mediante amniocentesis manteniendo la misma eficacia diagnóstica, evitando pérdidas fetales y, sobre todo, ansiedad en las gestantes.

Nuevos métodos y más rápidos para el estudio citogenético están disponibles en este momento como es la detección de aneuploidías por FISH de interfase en amniocitos no cultivados o el método de QF-PCR utilizando el ADN extraído de los amniocitos. Estos métodos son muy eficaces en aquellas gestantes que tienen alto riesgo con la ventaja de ofrecer los resultados en uno o dos días.

El impedimento para realizar un cribado prenatal universal de todas las mutaciones conocidas, por un lado, viene por la naturaleza invasiva del método de diagnóstico prenatal que requiere una amniocentesis o una biopsia corial y, por otro, por la naturaleza traumática de la falta de un tratamiento eficaz, que suele acabar en la interrupción del embarazo. Ahora bien, si este último aspecto es un «impedimento» en el diagnóstico prenatal, puede no serlo en el diagnóstico de preimplantación, consiguiendo implantar los embriones sanos congelando o desechando los embriones portadores de una o varias anomalías.

Una nueva y prometedora metodología revolucionaria está cercana. El diagnóstico prenatal mediante el análisis del ADN fetal en el plasma materno. La primera demostración de la presencia de ADN fetal libre en el suero materno la hizo Lo y col en 1997 (379) detectando secuencias de ADN del cromosoma Y en el plasma de

una mujer gestante de un feto varón. Este descubrimiento inició un nuevo y excitante camino para el diagnóstico prenatal no invasivo. El ADN fetal circulante consiste predominantemente en fragmentos cortos de ADN de los que el 80% son menores de 200 bp. Además, el ADN fetal representa solo una subfracción (alrededor de 3-6%) del ADN libre que está circulando en el plasma materno. En el caso de reproducción asistida, la edad gestacional más temprana en la que es posible detectar el ADN fetal es el día 18 después de la transferencia. Parece que la concentración del ADN fetal aumenta a medida que la gestación avanza, desapareciendo rápidamente después del parto. Cuando esta tecnología esté disponible, será posible realizar un diagnóstico prenatal simplemente extrayendo sangre a la gestante y así evitar las pérdidas fetales consiguientes a una técnica invasiva. Además una técnica basada en el estudio de ADN es fácilmente automatizable lo que puede obviar la limitación de tiempo de análisis-número de especialistas o laboratorios disponibles. En Europa hay una red de excelencia, SAFE ([www.safenoe.org](http://www.safenoe.org)), que engloba a todos los grupos que están trabajando en la implementación de este método diagnóstico.

Las técnicas de reproducción asistida, fundamentalmente la fecundación in vitro, permiten analizar al embrión antes de su implantación. Actualmente es posible realizar cualquier análisis genético en una sola célula obtenida de un embrión antes de implantarse y, en el caso de enfermedades hereditarias, poder seleccionar los embriones de acuerdo a su dotación genética, este es el diagnóstico de preimplantación.

El diagnóstico de preimplantación ha planteado y seguirá planteando problemas éticos acerca de qué o cuales diagnósticos se deben de realizar. Si para enfermedades hereditarias monogénicas como el corea de Huntington o la fibrosis quística no parece haber dudas en cuanto al diagnóstico de preimplantación y a la selección de embriones, en otras enfermedades en las que el diagnóstico es de alta penetrancia, como el de las mutaciones BRCA en el cáncer de mama hereditario, diferentes organismos son los que toman las decisiones, como es la comisión nacional de reproducción asistida en el caso de España.

Mirando al futuro, un mejor conocimiento del feto y unas buenas herramientas diagnósticas prenatales inevitablemente terminarán por facilitar el tratamiento fetal de algunas enfermedades. Aunque la mayoría de las enfermedades y malformaciones fetales se

suelen tratar médica y quirúrgicamente tras el parto, algunas malformaciones y enfermedades genéticas pueden requerir intervenciones in utero para prevenir o aliviar secuelas futuras. Procedimientos tales como la manipulación del líquido amniótico, su drenaje o reconducción, la transfusión fetal, la fetoscopia quirúrgica o el trasplante de células madre serán posibles. Sin olvidar los tratamientos farmacológicos que ya se están realizando tras el diagnóstico fetal como los encaminados a evitar una masculinización en la hiperplasia adrenal congénita o el tratamiento en algunas arritmias cardíacas. Posibles y novedosos tratamientos son los ensayos que se están realizando con el trasplante de células madre mesenquimales para tratar la osteogénesis imperfecta o con células madre hematopoyéticas en las inmunodeficiencias hereditarias.

Evidentemente, tanto las posibilidades diagnósticas como las terapéuticas han de estar presentes en el consejo genético de cualquier enfermedad genética hereditaria.

### **Nueva eugenesia**

Cuando el conocimiento incide sobre la salud, como ocurrió en la época de la eugenesia en la primera mitad del siglo XX, aunque las personas sean bien intencionadas pueden acaecer desastres. Afortunadamente la especialidad de Genética Médica, como cualquier otra especialidad médica, no solo se basa en el conocimiento científico y su aplicación, sino en las buenas prácticas médicas, tiene sus normas éticas, por lo que su intervención sobre los individuos o sobre la sociedad se hace siguiendo el sentido común, manteniendo unas normas éticas y estando regulada tanto por los comités de las asociaciones científicas nacionales o continentales y por la propia legislación de cada país.

Se podría decir que en estos momentos existe una corriente de pensamiento en la sociedad que se puede denominar «nueva eugenesia». A diferencia de la eugenesia de la primera mitad del siglo XX, esta no viene impuesta por un grupo social, sino mas bien es reclamada, cuando no exigida, a nivel individual. Se podría decir que forman parte de la nueva eugenesia el diagnóstico prenatal y la reproducción asistida con el correlato del diagnóstico de preimplantación. En este sentido existen no solo normas sino comisiones hospitalarias, comunitarias e incluso nacionales como la comisión

nacional de reproducción asistida o las comisiones de ética comunitarias u hospitalarias que toman decisiones sobre los nuevos retos que surgen cada día, bien sea por demandas del usuario (selección de semen u óvulo donante, alquiler de útero, clonación), bien sea por la disponibilidad de nuevas y más potentes herramientas de diagnóstico (selección de embriones en enfermedades tales como el cáncer hereditario).

Hasta ahora, el diagnóstico de preimplantación se realiza cuando existen razones médicas, esto es, cuando hay una historia clínica que sugiere la posibilidad de embriones en riesgo para una enfermedad determinada en esa familia.

La ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embryology*) en una publicación realizada en 2010 en *Human Reproduction* (380), muestra las siguientes cifras en Europa en 2006: En 20 países se han realizado 359.110 ciclos para reproducciones asistidas lo que corresponde a 850 ciclos por millón de habitantes (mostrando un incremento constante considerando años anteriores), dando lugar a un 29 % de embarazos, naciendo 87.705 niños lo que supone el 1 % de los nacimientos en Italia o el 4,1 % en Dinamarca. Especificando más, la donación de óvulos produjo 5.516 embarazos. El diagnóstico de preimplantación, datos recogidos de 13 países europeos, se realizó en 6.561 ciclos de los que 2.478 se hicieron en España y 2.308 en Turquía.

Algunas voces se alzan manifestando el temor a que en el futuro, como en la película GATTACA todos los humanos nazcan tras técnicas de fertilización in vitro previo chequeo genético. Pero, ¿cómo de popular se hará el diagnóstico de preimplantación?, ¿será posible diagnosticar cualquier anomalía genética en un embrión? De momento la respuesta es fácil. Por un lado no parece cercana la posibilidad de diagnosticar todas las anomalías genéticas, mas aun si se incluyen las enfermedades multifactoriales comunes del adulto. Por otro lado, no parecen técnicas fáciles desde un punto de vista económico. La respuesta actual es que concebir un niño por métodos naturales es más barato, fácil y divertido.

Los humanos, a nivel individual, reclaman su derecho a tener una descendencia sana y, de forma tímida todavía, la posibilidad de mejorar su descendencia o incluso elegir algunas características. En este sentido, el diagnóstico de preimplantación tras fertilización in vitro es una de las técnicas disponibles y que de alguna forma se podría ligar a las aspiraciones neoeugenésicas de la población.

La posibilidad de realizar un cribado total y universal de mutaciones estará basada en los costes económicos y en los beneficios. Aún es demasiado pronto para hacer un balance pero se pueden sugerir algunas cifras. El retraso mental congénito afecta a unos 51.000 niños anualmente en Estados Unidos, el CDC (*Center for Diseases Control*) estima que cada niño afectado costará un millón de dólares a la economía americana a lo largo de su vida, por lo que el coste total será de 51 mil millones de dólares, estimaciones de 2004 (381) y sin incluir los costes emocionales y sociales de los padres. Teniendo en cuenta esto, ¿hasta dónde se extenderá la selección de embriones? ¿será más popular si los costes disminuyen? De momento la legislación es clara, no es posible seleccionar los embriones en base a características fenotípicas, sólo para evitar enfermedades, y ahora parece posible hacer un cribado prenatal mediante un array que es capaz de diagnosticar más de 100 enfermedades.

Volviendo a la realidad constatable, cada año nacen 4,1 millones de niños en los Estados Unidos de los que 6.150 tendrían un síndrome de Down, pero en realidad sólo nacen con síndrome de Down 4.370 niños, el resto, 29 %, fueron interrumpidos durante el embarazo. Estas cifras son estimaciones basadas en datos de Atlanta y Hawaii, datos similares a los de Australia, 32 %, que llegan a alcanzar una tasa de abortos del 85 % en Francia. A pesar de estas cifras, el número absoluto de nacimientos de niños con síndrome de Down no ha disminuido debido al incremento de embarazos en mujeres de edad avanzada. Armand Marie Leroi (382) expone las dos formas de ver estos hechos: Estos abortos son eugenésicos tanto en la intención como en el efecto, ya que el propósito es eliminar un feto genéticamente defectuoso y permitir un niño genéticamente superior en un embarazo posterior. La otra forma de verlo es, los padres lo único que buscan es tener un hijo sano.

Siguiendo el ejemplo del síndrome de Down, en 2010, Cocchi y col (383), basándose en los datos de 20 registros pertenecientes al *International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research* (ICBDSR), analizan la prevalencia del síndrome de Down en relación con la edad materna y la interrupción del embarazo entre los años 1993-2004, lo que corresponde a millón y medio de nacimientos anuales. La conclusión es que ha aumentado la proporción de embarazadas por encima de los 35 años, de 10,9 % en 1993 a 18,8 % en 2004, aumentando consiguientemente la prevalencia de síndrome de Down en el embarazo, de 13,1 a 18,2 por 10.000 nacimien-

tos, pero la prevalencia de los niños con síndrome de Down que lleguen a nacer permanece estable, 8,3 por cada 10.000 nacimientos.

Lo cierto es que la interrupción del embarazo tras un diagnóstico prenatal de un feto afectado está aceptada en casi todas las sociedades, en ningún país existe coerción alguna en los padres para realizarla, son ellos los que libremente toman esa decisión. Según cálculos de Leroi, en los países del G8 se abortaron un 20 % de fetos con defectos congénitos en 2002. Esta aceptación de la interrupción del embarazo por enfermedades congénitas sugiere que podría haber menos resistencia a otros métodos más sofisticados de selección eugenésica, continúa Leroi.

Sin embargo estos test de diagnóstico prenatal no va a disminuir la carga mutacional de la especie humana. De momento el diagnóstico solo se hace para riesgos muy prevalentes o cuando una enfermedad se está heredando en una familia, no para mutaciones *de novo*. Pero si esto fuera posible, como parece que puede apuntar la tecnología de arrays de CGH, ¿cuál será su campo de aplicación? En este sentido, conviene considerar que no todas las enfermedades van a ser abortadas, siempre habrá que tener en cuenta que la decisión última, que es de los padres, estará basada en la certeza de la precisión y la naturaleza de la enfermedad.

Un ejemplo de que no todas las enfermedades o defectos congénitos van a ser abortados es el de la hipoacusia congénita o sordomudez. En la comunidad de sordos, que utilizan el lenguaje gestual para hacerse entender, la sordera es una característica peculiar no una discapacidad, por eso han ocurrido episodios como los que han aparecido recientemente en la prensa bajo el título «di gracias a que mi hijo naciera sordo» o «cuando mi madre se quedo embarazada rezó para que yo naciera sordo» (El País, 27 de diciembre de 2007), o «queremos que nuestro hijo sea sordo. Una pareja británica exige una selección genética para alumbrar un hijo con su misma discapacidad» (El País, 11 de marzo de 2008) y aún más lejos, el caso de una pareja de mujeres en California que reclamaron una inseminación artificial buscando un donante que fuera sordo con tres generaciones previas de sordos para así asegurarse la sordomudez de su futuro hijo.

Si esto ocurre con la selección de un rasgo como la sordera, ante la hipotética selección de rasgos positivos, Michael J Sandel en un reciente ciclo de conferencias en la UIMP de Valencia dice que «Las injusticias que genera la sociedad no debe de resolverlas la biotec-

nología .... sino reorganizando las instituciones sociales..... Ya que cambiar la naturaleza de nuestros hijos para que tengan un mayor éxito en una sociedad competitiva puede parecer un ejercicio de libertad, pero es todo lo contrario, .... El acto de libertad es cambiar la sociedad para que todo el mundo tenga cabida en ella». La capacidad predictiva de la genética no es comparable con la eugenesia ni con la neo-eugenesia, ya que la predicción puede llegar a tener que ver con el comportamiento de un individuo en su relación con la sociedad pero en ningún caso la interacción de él con la sociedad, ya que es un acto voluntario del individuo nada relacionado con su dotación genética. Esta frases son el reflejo del libro que Sandel publicó bajo el título «Contra la perfección» (384).

### **La genética en la sociedad del siglo XXI: Nuevos retos**

El conocimiento genético ha sido exponencial y ha supuesto una revolución en la medicina y en la sociedad. Para M.J. Melman «es como si el fuego y la rueda se hubieran descubierto el mismo día». Estos conocimientos genéticos han impactado en la sociedad de forma que Michio Kaku ha llegado a decir que «hemos pasado de ser observadores de la naturaleza a coreógrafos». Otros, como John Morris en «Enhancing evolution» va más lejos y dice que en vez de coreógrafos somos creadores —de alguna forma Craig Venter ha reivindicado su parcela de creador al explicar cómo ha conseguido que una célula funcione con un genoma «creado» (sic) artificialmente.

Seamos corógrafos o creadores, lo cierto es que ahora podemos elegir, hemos pasado del azar a la elección. En la genética, este paso del azar, entendido como la dotación genética recibida, a la elección, fundamentalmente reproductiva, hace que se vuelva a hablar de eugenesia, en este caso nueva eugenesia, eugenesia postgenómica o, como titula Nicholas Agar «*liberal eugenics*».

### *Ética*

Esto plantea grandes discusiones y dilemas éticos entre los que es muy clarificador el libro de Michael Sandel «Contra la perfección» (384). Sandel dice que «tratar a los hijos como dones es acep-

tarlos tal como son, no como objetos de nuestro diseño, o productos de nuestra voluntad, o instrumentos de nuestra ambición.... Escogemos a nuestros amigos en razón de sus cualidades ... pero no a nuestros hijos ... por eso la paternidad nos enseña la «apertura a lo recibido». Continúa escribiendo, «¿Hay diferencia entre mejorar un hijo mediante la educación que mejorarlo mediante la ingeniería genética? ... probablemente no hay diferencias morales, lo cuestionable es la hiperpaternidad (buenas escuelas, universidad privada, escuelas de deporte de elite, etc. ... Un aspecto de nuestra humanidad que podría resultar amenazado por la ingeniería genética y el perfeccionamiento es nuestra capacidad para actuar libremente y para considerarnos a nosotros mismos responsables. .... Su peligro más profundo reside en que son el reflejo de una ampliación desmesurada del campo de la acción humana, de una aspiración prometeica a rehacer la naturaleza, para servir a nuestros propósitos y satisfacer nuestros deseos. El problema es la ambición de dominio».

### *Medicina preventiva*

Hasta ahora, la medicina preventiva y las medidas de salud pública iban encaminadas a detectar los factores ambientales y los determinantes sociales que podían tener un impacto en la salud y podían ser corregidos (385). Los avances en el conocimiento de la genómica han hecho que se cambie el enfoque de forma que las medidas preventivas o programas de salud se dirijan a individuos y familias susceptibles o a subgrupos de población basados en su perfil genómico de riesgo. Este es el reto que va a tener que encarar tanto la medicina como la sociedad (386).

### *Biobancos*

La tecnología molecular ha facilitado de forma extraordinaria el análisis genético de numerosos genes. El ADN se extrae automáticamente y, una vez estudiado aquello para lo que fue extraído, se almacena en biobancos. Este hecho permite que a veces se emplee el ADN de individuos o grupos para fines para los que no fue extraído. Un ejemplo es el de los indios Havasupai de Arizona (Amy Harmon, NY Times – El País, 13-5-2010).

## Discriminación

A medida que se describen las características genéticas que predisponen a una enfermedad, existe el riesgo de marcar a algunas personas como inadecuadas. Desde que fue posible el diagnóstico predictivo se pensó que proteger la información genética era esencial ya que las compañías de seguros, tanto médicos como de vida, estarían muy interesadas en conseguir, cuando no realizar, pruebas que informaran sobre los costes sanitarios futuros o la longevidad de un individuo, pero no solo estaban interesadas las compañías de seguros, también los departamentos de recursos humanos de una empresa quieren saber en qué trabajadores se puede invertir en formación y en cuales no merece la pena dado su futuro estado de salud.

Unos de los primeros países en enfrentarse a este problema, dada su repercusión en los seguros de vida ha sido el Reino Unido, en el que existe una moratoria en el sector de los seguros desde el año 1997 que prohíbe el uso de información derivada de análisis genéticos para la suscripción de un seguro de vida. Otros países europeos han legislado para prohibir la discriminación genética en ciertos contextos, como en Noruega donde hay una normativa que prohíbe el uso de datos genéticos de un individuo por determinadas instituciones, incluidas las compañías de seguros. En Austria, las leyes prohíben a las compañías de seguros obtener, solicitar, tomar o utilizar de cualquier manera resultados de análisis genéticos de personas que desean suscribir un seguro y en Bélgica, una Ley sobre contratos de seguro aprobada en 1991 prohíbe la utilización de resultados de análisis genéticos en relación con contratos de seguros de vida. Finalmente el Parlamento Europeo y el Consejo de Europa también consideran la discriminación genética en la «*Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with Regard to the Application of Biology and Medicine: Bioethics Convention on Human Rights and Biomedicine*, (Estrasburgo, Noviembre de 1996. DIR/JUR (96) 14, Art. 12). En los Estados Unidos se ha aprobado la *Genetic Information Non-Discrimination Act 2008* que ha entrado en vigor el 21 de noviembre de 2009.

Cada vez es mayor la necesidad de leyes explícitas sobre la protección de los datos derivados de pruebas genéticas ya que, a modo de ejemplo, ahora es posible no solo conocer factores genéticos que predisponen a una enfermedad común, sino que también parece posible que determinadas características genéticas puedan predecir

la conducta. Recientemente se han descrito SNPs que estarían relacionados con la conducta suicida (387).

### *Patentes*

Otro tema polémico que surge con el descubrimiento del genoma humano es el referido a las patentes de genes. El propósito de una patente es promover la investigación y la innovación y permitir el retorno de los beneficios resultantes sirviendo a la sociedad. El precio, es la exclusividad que se concede al inventor durante un tiempo limitado.

Esto que está claro para cualquier innovación que suponga una mejora, no lo está en el caso de los genes humanos. Es más, recientemente ha llegado a los tribunales norteamericanos un litigio contra la patente de los genes *BRCA1* y *BRCA2* en relación al riesgo de padecer un cáncer de mama o de ovario, litigio planteado por un grupo de médicos, investigadores y pacientes (388). El argumento principal es que los genes *BRCA1* y *BRCA2* son productos de la naturaleza por lo que nunca podrán ser patentados. El uso de la información genética para diseñar terapias está posibilitando la creación de patentes (389). Este proceso no es discutido, no así el uso de los genes para detectar enfermedades o las asociaciones genotipo-fenotipo.

La ESHG (*European Society of Human Genetics*) ha consensuado un documento acerca de la patente de los genes humanos (390) en el que se consideran y discuten todos los aspectos y circunstancias que intervienen en el proceso de patentado como son la relevancia médica de los análisis diagnósticos, su utilidad y validez clínica, los laboratorios intervinientes, los costes, los aspectos éticos, los consentimientos informados, cómo se comparten los beneficios, el concepto de invención, la aplicación industrial y las consecuencias del patentado.

### *Impacto en la prensa*

En este año han aparecido noticias en la prensa tales como que es posible ya una individualización terapéutica con la información genética de un individuo, que se han descubierto variantes genéti-

cas que se asocian a fibrilación ventricular en el infarto de miocardio o que se ha descubierto una variante genética ligada al aneurisma de aorta abdominal. Es moneda común que varias veces por semana la prensa general tenga noticias acerca del descubrimiento de un nuevo gen implicado en enfermedades comunes. Estas noticias suelen estar escritas con tal habilidad que parece cercano el momento en que serán tratadas o evitadas mediante procedimientos genéticos o genómicos.

En la literatura científica son muchos las publicaciones sobre genes en prácticamente todas las especialidades. Por no hablar de estudios tan aparentemente frívolos como la infidelidad. Recientemente se ha realizado un estudio amplio en un grupo de población longeva en los Estados Unidos para, con estudios de GWAs, intentar observar los alelos que confieren longevidad. El estudio de Sebastiani y col, 2010 (391) se hizo en 1.055 centenarios y 1.267 controles con 150 SNPs, consiguiendo que el 90% de los centenarios se agrupen en 19 clusters con diferentes combinaciones de SNPs de diverso grado de predicción. Estas características genéticas coinciden con características genéticas de enfermedades relacionadas con el envejecimiento como son demencia, hipertensión y enfermedades cardiovasculares. De alguna forma, los autores dicen que se puede predecir la longevidad en el 77% de las personas estudiadas, o dicho de otra forma, un 23% de los longevos no tenían la dotación genética favorable deduciéndose que si habían llegado a ser longevos era por los cuidados exquisitos de estilo de vida y medidas higiénicas. Este trabajo ha sido fuertemente criticado por la heterogeneidad del grupo control y por haber utilizado dos plataformas de arrays diferentes, lo que hace dudar su replicabilidad.

No obstante, la pregunta es ¿qué utilidad puede tener esta información a nivel individual? Está claro que a nivel colectivo, como conocimiento, puede ayudar a comprender los mecanismos genéticos del envejecimiento o de la longevidad, pero a nivel personal, solo puede servir para lo contrario, aquellos individuos «marcados» como longevos no necesitarían seguir unas normas de estilo de vida sano. Curiosamente, y aquí viene el interés de considerar el impacto de las noticias en la prensa diaria, poco después de esta publicación aparecida en Science, el diario Wall Street Journal realizó una encuesta preguntando cuantas personas estaría dispuesta a conocer si eran portadoras de genes de alta longevidad. El 75% de los encuestados respondieron que querían saberlo.

## *Futuro del Consejo genético*

El proceso del consejo genético intenta facilitar la toma de decisiones de forma autónoma e informada, la apreciación de la herencia de una enfermedad, integrar la información genética en un marco útil y mejora el bienestar de los afectados y los miembros de su familia.

Pero parece que podría haber un conflicto entre el objetivo de los programas de salud pública y la autonomía en las decisiones reproductivas. Bowles y Marteau (392) hacen las siguientes reflexiones:

El objetivo explícito de reducir la incidencia de individuos afectados no está en conflicto con el objetivo del consejo genético cuando la enfermedad es tratable y por lo tanto el método de reducir la incidencia no depende de la interrupción de los embarazos afectados. Los genetistas en este conflicto han procurado que la decisión reproductiva sea autónoma e informada, pero cuando una enfermedad genética puede tratarse, las pruebas genéticas pueden ser incluso obligatorias como en el caso del cribado de recién nacidos.

Bowles y Marteau continúan, una consecuencia directa de la genómica es desarrollar nuevos test que anuncian una revolución en la práctica de la medicina. Algunos test identificarán mutaciones en genes de enfermedades mendelianas, mientras que otros analizarán genes de baja penetrancia que junto con factores ambientales dan cuenta de las enfermedades comunes. Esto cambia el consejo genético ya que hay no solo que recomendar pruebas genéticas, sino interpretarlas y consecuentemente recomendar tratamientos o estrategias preventivas, pero para ello harán falta muchos más estudios epidemiológicos para interpretar estos tests.

La práctica del consejo genético siempre ha ofrecido de forma imparcial los test genéticos, explicando previamente los pros y los contras, el poder de la información que se puede obtener y la incidencia sobre la persona que recibe la información. Esto ha entrado en conflicto con el marketing agresivo de algunos laboratorios, mayoritariamente en internet, que ofrecen estos test y sin garantía alguna y menos conocimiento científico, proponen medidas higiénicas preventivas e incluso tratamientos.

Bowles y Marteau concluyen que todos aquellos que hacen programas de cribado genético necesitaran habilidades no solo para comunicar riesgos sino para facilitar cambios de conducta para reducir el riesgo. Los test predictivos de enfermedades con tratamiento

requerirán una estrategia diferente de los de enfermedades sin tratamiento. Uno de los propósitos de presentar riesgos en un contexto clínico es transmitir una probabilidad de un acontecimiento adverso, evitando falsos consuelos o fatalismos y sin causar ansiedad innecesaria.

## **Medicina personalizada**

«Vivimos en un tiempo revolucionario. Nuestra ciencia ha atrapado el espíritu de los tiempos y se han realizado más mejoras en todas sus ramas en los últimos 20 años que en los cien años anteriores». Esta frase que es válida en este momento y parece escrita para el siglo XXI, fue pronunciada por Benjamin Rush, médico fundador y firmante de la declaración de independencia de los estados Unidos, en 1791.

Sesenta años después de saber que el ADN es la molécula que compone los genes, cincuenta años después de saber que la molécula de ADN es helicoidal, se ha concluido la lectura del genoma humano, lo que ha traído como consecuencia la posibilidad de un diagnóstico y un pronóstico más precisos, junto con un manejo de las enfermedades más eficaz. Todo ello hace que actualmente se intente tener un perfil genético con variantes asociadas a enfermedades comunes con el propósito de recomendar medidas preventivas individuales que reduzcan el riesgo de estas enfermedades.

El siglo XXI es el siglo de los «omic» en biomedicina. Cualquier prefijo unido a ómica es signo de modernidad y de estar al día: genómica, proteómica, transcryptómica, reactómica. Pero no deben de olvidarse los orígenes, para ello la etimología de las palabras es muy importante, genómica o genoma viene de **gen** y de **cromosoma**.

El documento de de la UE sobre los OMICS en la medicina personalizada, resume un workshop celebrado en abril de este año (393). Es una iniciativa europea encaminada a diseñar la política científica futura en el campo de la salud teniendo en cuenta que uno de los grandes retos en esta área es la necesidad de mejorar el conocimiento en los mecanismos de la enfermedad, rompiendo las barreras disciplinarias y trasladando el conocimiento a la práctica clínica.

Este documento describe la medicina personalizada como un campo emergente que promete traer cambios radicales en la sanidad y la define como un modelo médico que utiliza las tecnologías

de obtención de perfiles moleculares para adecuar la estrategia terapéutica correcta en la persona adecuada en el momento adecuado, determinar la predisposición a la enfermedad desde el nivel poblacional y diseñar una prevención estratificada».

Este documento continúa con unas visiones y estrategias a corto y largo plazo. Este es el resumen:

#### 1. Visión:

- a. En 2020 se habrá logrado una definición molecular de la salud y del binomio salud-enfermedad junto con la identificación de marcadores tempranos que señalen el paso entre los dos estados. Además, la clasificación de las enfermedades en los niveles genético, molecular y celular funcional propiciará un cambio en el tratamiento y prevención, algo que ya se está viendo en algunas enfermedades como el cáncer. El mayor reto será el descubrimiento, la evaluación y la validación de biomarcadores y perfiles de las enfermedades comunes.

El cuello de botella está en las plataformas ómicas, ya que si bien la genómica está lista para su aplicación clínica, otras como la proteómica, la epigenómica los análisis funcionales celulares, requieren más investigación para su futura aplicación. Además se necesitan más modelos de enfermedad preclínicos y un mejor conocimiento de los mecanismos moleculares y celulares que subyacen en las enfermedades comunes

- b. Se espera que la prescripción de medicamentos se ajusten al paciente y al momento adecuado de forma que aumente la eficiencia del cuidado de la salud a la vez que disminuye sus costes. Los biomarcadores basados en el conocimiento de los omics y otros métodos no invasivos de diagnóstico que se diseñen, identificarán grupos de riesgo propiciando un cribado y una prevención oportuna.
- c. La bioinformática que integra los datos masivos que se obtienen en las diferentes plataforma omicas deberán mejorarse para obtener resultados a nivel poblacional pero también individual, necesarios para un buen sistema de prevención.
- d. Por último, intenta que todos los países de la Unión Europea estén en un nivel similar respecto a la medicina personalizada.

2. Estrategias a corto plazo (antes de 2015):
  - a. La farmacogenómica conseguirá mejorar la eficacia de los medicamentos actuales, aumentará la tasa de éxito en el desarrollo de nuevos medicamentos y reducirá la incidencia de los efectos adversos.
  - b. Abordaje de las enfermedades raras hereditarias que muchas de ellas ponen en serio peligro la supervivencia de los enfermos o producen discapacidades importantes. Hasta ahora solo se ha resuelto el origen genético de la mitad de las aproximadas 6.000-8.000 enfermedades raras hereditarias y solo tienen tratamiento un millar de ellas, lo que supone una carga económica y social importante. Intentar mejorar la rapidez y disponibilidad de los análisis de las enfermedades hereditarias.
3. Estrategias a largo plazo (hasta 2020):
  - a. Se habrá llegado al punto en el que se conozcan por primera vez todos los «ladrillos» de la vida. La combinación de estos conocimientos llevará a un mejor conocimiento de la salud y la enfermedad en los niveles genético, molecular y celular. Como se habrán descrito nuevos biomarcadores de la salud y de la enfermedad, habrá que evaluarlos y validarlos. Se deberán definir centros de excelencia clínica específicos de determinadas enfermedades donde se puedan aplicar todas las herramientas ómicas y estarán especializados en la traslación del conocimiento científico a la práctica clínica.
  - b. Interacción genética-estilo de vida: Se pretende personalizar la sanidad, haciendo los estudios necesarios con suficiente potencia estadística para que, estudiando la heterogeneidad de estilos de vida y de exposiciones ambientales, se obtengan evidencias de la interacción *nature-nurture*.

### *Genómica de una sola molécula*

El término genómica de molécula única (SMG, *single-molecule genomics*) se refiere al estudio del genoma mediante el análisis de una sola molécula en vez de un «pool» de moléculas de ADN como se hace habitualmente. Este tipo de análisis se puede aplicar a de-

terminadas dianas moleculares o a la denominada resecuenciación. Actualmente la técnica de PCR es suficientemente robusta como para hacer el análisis de una sola molécula de ADN incluso de forma cuantitativa. Respecto a la secuenciación, en vez de utilizar muchas secuencias cortas que después hay que armar, se puede secuenciar secuencias más largas de una sola molécula.

Pensando en la medicina personalizada, parece que ésta es una técnica con futuro como recientemente sugieren McCaughan y Dear (394).

### *Impacto social. Consumer genetics*

Los conocimientos de la medicina molecular, fundamentalmente los concernientes a la genética, están permeando en la opinión pública a través de un bombardeo constante de información en todos los medios.

Hasta qué punto esta información tiene un impacto social constatable es materia de estudio en la actualidad. En principio se observan dos fenómenos, por un lado el tipo de demandas de servicios sanitarios y por otro lado el fenómeno creciente de los laboratorios genéticos que ofrecen sus servicios a través de internet, incluso en áreas comerciales. Es el denominado «*consumer genetics*».

El modelo genético dominante en la segunda mitad del siglo XX ha sido el de las enfermedades hereditarias monogénicas, basado en la segregación de un único gen y en las que era posible hacer una predicción de riesgo que se integraba en el consejo genético con gran exactitud. Actualmente, en el inicio del siglo XXI, ha cambiado el concepto de gen, un segmento de ADN con una función variable dependiente del contexto. La genética mendeliana ha pasado a estudiar las enfermedades comunes de comienzo tardío y la pregunta puntual es ¿cómo y en qué circunstancias un segmento de ADN se expresa y cuál es su relación con el ambiente molecular interno y externo del organismo? Esta situación hace que la predicción de riesgo sea problemática y que la percepción que tiene un individuo o una familia acerca de «pasar los genes» o «relaciones genéticas familiares» con respecto a la incidencia de una enfermedad común en la familia sea desconocida. Concretamente, los resultados de las pruebas genéticas en enfermedades comunes tienen un gran número de dudas e incertidumbres, tanto para los médicos

como para los individuos afectos o sus familias, lo que de alguna forma influirá en la forma de entender e interpretar el efecto de los genes.

Un estudio sobre Alzheimer realizado a través de encuestas y publicado por Chilibeck y col en 2010 (395) ha llegado a las siguientes conclusiones: Las consideraciones de la relación entre genes y ambiente esta «naturalizada» en el discurso público y los determinantes gen y enfermedad no figuran de forma prominente en la conversación. Incluso el riesgo genético de Alzheimer, que se había establecido en base a la determinación del gen *ApoE*, se interpretaba a través de un proceso de «familiarización» en el que el riesgo estimado se diluía dentro de las creencias preexistentes sobre quien en la familia padecería Alzheimer. Comparando el grupo de personas a los que se les había realizado el análisis genético y a los que no, se observaba que el riesgo percibido no cambiaba espectacularmente con la práctica del estudio genético. La conclusión es que el estudio genético de *ApoE* tenía pocos o ningún efecto en las relaciones familiares o en las sociales. De alguna forma se observa en este estudio y en otros similares cómo la familia y las relaciones familiares conforman la interpretación de la información genética.

En los extractos de algunas entrevistas se observa que para mitigar las amenazas externas, las personas utilizan cada día estrategias de prevención, como ingerir comida orgánica, tomar vitaminas, hacer ejercicio y controlar el peso. Creen que esas actividades son suficientes para mantener una interacción saludable genética-ambiente. Estas medidas serían interruptores o gatillos que harían que un gen dormido se despertara o viceversa. Otros individuos tratan de mantenerse alejados del historial médico familiar, la mayoría rechaza la idea de una historia genética determinada, centrándose en la responsabilidad individual y en la toma de decisiones como la clave para evitar los problemas. Algunos individuos insisten en que aunque compartan genes con sus familiares, ellos tienen genes «transformados» debido a las diferencias generacionales en el estilo de vida.

Estos resultados están en contra de uno de los temores de los genetistas acerca de la generalización de los estudios genéticos. La posibilidad de marcar al individuo, de que el sentimiento del determinismo o del fatalismo modifique las conductas individuales o familiares, como se había intuido en las enfermedades monogénicas. Parece que las características genéticas que influyen en las enfer-

medades comunes no preocupan más que otros determinantes sociales ambientales referidos al estilo de vida. En contra de esto, está el laboratorio de genética de consumo directo que se anuncia en internet ofreciendo la búsqueda de la pareja «compatible genéticamente» (<http://www.genepartner.com>) y que se anuncia con la siguiente presentación: «¡El amor no es una coincidencia!, emparejar hombres y mujeres a través del análisis de su ADN».

Hace dos mil años Galeno introdujo el concepto de medicina personalizada. Ahora, gracias a las tecnologías que tan rápidamente se están implementando, la posibilidad de hacer este tipo de medicina está al llegar. Analizando el genoma de una persona en 1.000.000 de sitios después de unas horas de trabajo, se podrá obtener la secuenciación del genoma con un coste de 1.000 dólares. Pero aunque el sector privado está ofreciendo servicios de «genotipado boutique», comenta James Evans en 2008 (396), la medicina aún está tratando de saber qué hacer para que este conocimiento genómico redunde en la mejora de la salud.

El fenómeno del «*consumer genetics*» que aparentemente está resultando un éxito comercial está en contra de las conclusiones del estudio de Chilibeck y col comentado más arriba. Este fenómeno es nuevo. Hasta hace poco las pruebas genéticas se realizaban a demanda de los propios genetistas u otros especialistas médicos, salvo el diagnóstico prenatal de aneuploidías. Actualmente se observa una multiplicación de sitios web que ofertan todo tipo de test genéticos, además estos laboratorios están amplificados en determinados blogs o aparecen en sitios preferenciales en las páginas de búsquedas en internet.

Este fenómeno ha cogido a la legislación de todos los países de forma inesperada, por lo tanto, sin tomar las medidas pertinentes. Los sistemas de salud pueden acabar enfrentándose a una situación en la que la difusión y el uso de los test genéticos se efectúen por fuera de su ámbito de acción.

La popularidad y generalización de estos laboratorios en internet viene dada en primer lugar por la relación oferta-demanda y en segundo lugar por el efecto «contagio» que tiene cualquier innovación surgida en internet.

Estos laboratorios nacen porque hay científicos que tras colaborar en grandes institutos de investigación genómica, principalmente en estudios de asociación GWAs, crean una empresa pequeña donde rentabilizar su conocimiento y, sobre todo, su habilidad para

extraer aquellos hallazgos que puedan tener un significado en la salud y, cómo no, en el negocio. Pero también hay laboratorios que han participado en esos estudios y ahora tratan de rentabilizar su inversión.

Por parte de los usuarios, el motivo del éxito vendría por dos razones, una de ellas es el sentido actual de libertad que impele a que el individuo tome sus propias decisiones sin intermediario alguno, es lo que está ocurriendo en muchos aspectos de la medicina con el autodiagnóstico y la automedicación. La otra razón sería la importancia que se le da al bienestar corporal y la prevención de la enfermedad.

El primer «proveedor» de análisis genético directamente orientado al consumidor fue Sciona que distribuyó pruebas genéticas en Gran Bretaña a través de la cadena de tiendas Body Shop.

*Genetics and Public Policy Center* es una organización creada en 2002 en la Universidad John Hopkins por el *Pew Charitable Trusts* para ayudar a los encargados de la política sanitaria, a la prensa y al público en general a entender y responder a los retos y oportunidades de la medicina genética y su potencial transformación en una salud pública global. En su página web (<http://www.dnapolicy.org>) aparece el último listado, mayo de 2010, con las 30 compañías que realizan alrededor de 400 test genéticos en su conjunto, no obstante la mayoría coincide con unos pocos test diagnósticos como degeneración macular, Alzheimer, asma, dermatitis atópica, cáncer de vejiga, cáncer de mama, celiaca, cáncer colorectal, cáncer hepático, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, litiasis biliar, glaucoma, esclerosis múltiple, dependencia a la nicotina, obesidad, adecuación genética de la nutrición, osteoartritis, osteoporosis, enfermedad vascular periférica, psoriasis, síndrome de las piernas inquietas, artritis reumatoide, accidentes cerebrovasculares, diabetes tipo 1 y 2, colitis ulcerosa y tromboembolismo venoso, por no citar otros rasgos ligados a la personalidad o habilidades.

Lo que sigue siendo una incógnita es el efecto que tienen sobre la población. Es clásico el ejemplo de aquella persona que tras realizarse una batería de test genéticos, recibe la información de que tiene menos riesgo que el resto de la población (habitualmente el riesgo se ajusta al grupo étnico o zona geográfica) de padecer una enfermedad cardiovascular con lo que deja de hacer ejercicio y aumenta el consumo de grasas y alcohol consiguiendo el accidente cardiovascular al que no estaba «predestinado».

Hay que mencionar que no hay un consentimiento informado ni información previa de cuál es la información que se va a obtener con las pruebas genéticas, por lo que determinados resultados, cuando menos, podrán originar una gran ansiedad e incluso modular la vida del individuo receptor.

De lo que sí hay pruebas es de la falta de fiabilidad. Hay dos tipos de fiabilidad, la validez científica de la prueba, y la fiabilidad del laboratorio. De la primera baste decir que la mayoría de los test de enfermedades comunes multifactoriales están basados en los alelos de predisposición que se publican en los estudios de asociación masiva GWAs. Muchos de los genes de susceptibilidad publicados en un estudio, cuando éste se replica, no se encuentran asociados en otra población, por lo que su eficacia o validez como marcadores de susceptibilidad en muchos casos es escasa o nula.

La segunda, es la fiabilidad del laboratorio que realiza las pruebas genéticas. Recientemente la compañía «23andMe» reconocía que se había cometido un error en cerca de un centenar de pacientes tanto en sus estudios de susceptibilidad como en las asignaciones de paternidad, la razón era, dicen en su página web, el «haber colocado un array de análisis en la posición incorrecta». Anécdotas aparte, en octubre de 2009 el grupo de Craig Venter (Ng y col) (397) publica un estudio realizado en dos compañías, 23andMe y Navigenics, analizando 13 enfermedades en 5 individuos. En resumen, en 7 de las enfermedades estudiadas, había menos del 50% de coincidencias de las dos compañías entre los 5 individuos (enfermedad de Crohn, lupus eritematoso, cáncer de próstata, psoriasis, diabetes tipo 2), mientras que en cuatro enfermedades ambas compañías coincidían en el riesgo ofrecido (estas enfermedades eran cáncer de mama, celiaca, esclerosis múltiple y artritis reumatoide). Evidentemente las discrepancias eran debidas a los genes marcadores elegidos, que eran diferentes en ambas casos. En mayo de 2010, la American Society of Human Genetics hizo una declaración en contra de la distribución de test genéticos en la cadena de supermercados Walgreen en los Estados Unidos.

J.P. Evans (396) denomina a este fenómeno genética recreativa y la divide en 6 apartados:

- Cosas que es útil conocer: Asociación de marcadores con una enfermedad. Pero ¿cómo aconsejar a una persona que tiene unas probabilidades de 1,3 para padecer un cáncer de prósta-

ta? Realmente nadie se cree que un riesgo como éste cambie los hábitos de un individuo.

- Cosas que ya se conocen: el color de los ojos
- Cosas que no se quieren conocer: las predicciones genéticas son solo probabilidades y como la ruleta se deben de tomar con cautela
- Cosas que no son verdad: los GWAs no replicados o asociaciones pertenecientes a una población diferente.
- Cosas que no se quiere que otros conozcan. ¿Quién asegura la confidencialidad de los datos sean o no ciertos?
- Cosas que es divertido conocer: esto es quizás lo que más interesa, cuántos genes se comparten con los amigos, con la familia o con algunos famosos.

Entre estas cosas inútiles pero que están en el catálogo de esas compañías, como 23andMe, se puede citar a la capacidad de oler los espárragos en la orina tras su ingesta o la peculiaridad de de estornudar cuando a una persona le da el sol en la cara.

### **Papel del médico genetista: traslacional – sostenible – gestor – psicólogo – consejero clínico**

La sociedad moderna ya tiene casi superadas las enfermedades, aumenta la longevidad, la capacidad adquisitiva permite dedicar más tiempo al ocio y la forma de enfrentarse a la vida es diferente. Esto hace que la demanda hacia la medicina y los médicos no sea para que curen las enfermedades sino para que ayuden o colaboren en lo que son los nuevos principios de los seres humanos que viven en el primer mundo:

- Intolerancia a la enfermedad
- Deseo de una descendencia sana, exitosa e inteligente
- No asunción de las limitaciones biológicas, como el envejecimiento
- Sentimiento de inmortalidad y juventud eterna

Por lo tanto se le pide a la medicina no envejecer, propiciar estilos de vida o antídotos contra la enfermedad, prever cuales pueden ser las enfermedades futuras y evitarlas.

En estas consideraciones la genética está como actor principal,

los medios amanecen casi cada día con el descubrimiento de nuevos genes que prometen resolver las enfermedades, el envejecimiento o facilitar la selección de la descendencia. A ello contribuyen los agresivos departamentos de comunicación de los institutos científicos y de los grupos editoriales de las revistas científicas cuyos límites éticos empiezan a discutirse.

Llegados a este punto ¿dónde queda el papel del genetista clínico?

Una de sus principales misiones es la de canalizar el conocimiento científico en beneficio de los pacientes y sus familias, haciendo de correa de transmisión entre el especialista clínico y el paciente, dando soporte psicológico al transmitir un consejo genético y siendo un gestor sostenible de la medicina indicando sólo los test genéticos necesarios para el diagnóstico o la predicción de la enfermedad.

El médico genetista ha de ser consciente del sentimiento de culpa que puede surgir después de un diagnóstico genético. Este sentimiento de culpa que parece tener un origen cultural-religioso, y que en algunos países puede estar ligado a los miedos que surgieron durante la etapa eugenésica, en realidad ha sido poco estudiado de una forma sistemática. De entre los pocos estudios realizados merece la pena destacar el de Pamela Sankar y col (398) en el que concluyen que en los individuos que se sienten estigmatizados, su sentimiento no depende del tipo de enfermedad, sino que las causas son muy complejas dentro del contexto de la experiencia del individuo en particular.

Durante la última década, la investigación dirigida a descubrir las causas subyacentes de enfermedades raras de origen genético o los componentes genéticos de enfermedades multifactoriales comunes ha contribuido a aumentar el conocimiento de la etiología y etiopatogenia de enfermedades que son tratadas en prácticamente todas las especialidades médicas. Los progresos enormes en tecnología han revolucionado la capacidad diagnóstica de enfermedades que hasta hace poco eran diagnosticadas más por descarte que por evidencias positivas. El conocimiento de cuáles son los test diagnósticos adecuados es cada vez más difícil, por ejemplo se ha pasado de un cariotipo realizado mediante un microscopio al cariotipo molecular mediante microarrays. La secuenciación ha permitido realizar diagnósticos que se emplean en el manejo de la reproducción. La información genómica ha limitado cuando no excluido las descripciones clínicas en las publicaciones científicas sobre enfermedades genéticas. Todo ello hace que las peticiones que llegan a un servi-

cio de genética desde otras especialidades consistan en realizar tal o cual test genético para hacer un diagnóstico diferencial, consumiendo recursos innecesarios cuando ese diagnóstico está desenfocado y, sobre todo, creando falsas esperanzas o preocupaciones familiares innecesarias. Por todo ello, la importancia de la observación clínica rigurosa es un prerrequisito para convertir los datos moleculares en información médica que redunde en beneficio del enfermo.

Sarah Chan del Instituto de Ciencia, Etica e Innovación de Manchester en un artículo publicado en EMBO en 2008 escribe sobre la humanidad 2.0 (399), tras narrar los grandes avances de la humanidad y el biotecnológico en particular, se pregunta ¿por qué tenemos que limitarnos a tratar las enfermedades en vez de utilizar la tecnología para mejorar muchos aspectos de la condición humana actual y de las generaciones futuras? Lo primero es definir qué se entiende por «mejora», Chan propone que mejora humana sería cualquier cosa que mejore nuestra función, cualquier intervención que aumente nuestras habilidades y permite un progreso individual, en suma es cualquier acción que va en beneficio del individuo, entre las que estaría la mejora en la inteligencia y en la salud. Para Chan esta mejora puede incluir las correcciones estéticas menores pero no las mayores. Entonces ¿donde está la frontera?, ¿hasta donde prevalece la autonomía de la persona? Aquí es donde entran en juego la genética y las técnicas reproductivas.

Está bien aceptado tomar vitaminas para mejorar la inmunidad, suplementos dietéticos para mejorar la salud y prevenir enfermedades, audífonos para paliar la presbiacusia, etc. El dilema está entre mejorar una función para llegar a niveles normales y mejorar una función para alcanzar niveles «supernormales». Uno de los problemas es que el concepto de normalidad ha cambiado bastantes veces a lo largo de la historia de la humanidad.

La manipulación genética para mejorar las capacidades de un individuo, de entrada parece ser menos aceptable por ser una nueva tecnología, pero moralmente no hay nada en contra, Chang dice, de la modificación genética somática, aquella que solo mejora determinadas funciones de un individuo pero no pasa a las siguientes generaciones. Los argumentos irían en contra de la manipulación de la línea germinal ya que «condenaría» a que los descendientes tengan determinadas características que ellos no han tenido la opción de elegir y por lo tanto infringiría su autonomía.

Todos los padres intentan tener hijos lo más sanos posible y no

hay ningún argumento en contra de este deseo. La cuestión está en qué se entiende por lo más sano posible, qué implica este concepto.

Los argumentos en contra de la mejora humana con métodos de manipulación genética van hacia la pérdida de la biodiversidad, la búsqueda del clon perfecto, o por el contrario la pérdida de las raíces y la diversidad étnica. Otro argumento es que con la manipulación genética se perdería el efecto de la selección natural y por ende de la evolución. Sin olvidar el argumento de la eugenesia.

Replantear lo realizado y ponerlo en cuestión es un fenómeno cíclico. Ahora estamos en un momento en el que parece que lo que se ha hecho en los últimos 10 años no ha servido para mucho, muchos estudios de asociación con multitud de SNPs y muchos esfuerzos han producido resultados pobres. Pero no es cierto, se han encontrado algunas asociaciones ciertas que no sirven para predecir la enfermedad pero sirven para conocer algunos de los genes que intervienen en esa enfermedad y así entender los mecanismos fisiopatológicos y probablemente servirán como diana terapéutica. Las falsas esperanzas o el anuncio de resultados espectaculares que poco después resultan no serlo, puede estar propiciado por el hecho de que los resultados se exigen a los tres años de haber iniciado un estudio, porque no se consiguen fondos si no se publica en una revista con un buen factor de impacto y hay que hacerlo rápidamente para poder conseguir estos fondos, por lo que se fragmentan las publicaciones y se publica antes de contrastar los resultados. Probablemente los grandes maestros de la primera mitad del siglo XX con esta presión no habrían podido desarrollar sus teorías que a veces costaban 20 o 30 años de trabajo, también es cierto que se han mejorado otros aspectos como trabajar en red, ya no es posible conseguir resultados sorprendentes con una red de un solo país, es necesaria una red continental o global, es la única forma de tener suficientes pacientes, suficientes recursos, suficiente masa gris. Además en contra de la sensación de fracaso, baste pensar en las herramientas biotecnológicas, en los programas bioinformáticos, en las bases de datos mundiales y abiertas a toda la comunidad científica y en que las TIC han facilitado que el médico tenga más y mejor acceso al conocimiento. Aunque esto último puede ser un drama ya que al médico se le exige tener que estar informado por lo que se necesitan más esfuerzos para conseguir que los portales de las bases de datos de la información sean más amigables de forma que se obtenga la información requerida sin demasiado esfuerzo para que los verdaderos esfuerzos los ponga el médico en transmitir ese conoci-

miento al paciente o al individuo sano cuando la medicina sea fundamentalmente preventiva.

La información que recibe el clínico sobre genética, genómica y medicina molecular avanza y se incrementa a una velocidad increíble y puede ser difícil de seguir, por eso hace falta un mediador, alguien que haga la traslación, este es el papel del genetista clínico, ya que tiene los conocimientos genético-moleculares suficientes y por otro lado conoce las necesidades de los pacientes, de sus familias o de sus médicos especialistas que a la postre serán quienes los traten y los sigan.

## **EPÍLOGO: España**

A modo de epílogo, permítanme referirme a la situación de la Genética Médica en España.

La historia en sus inicios es muy parecida a la del resto de Europa. Hay unos pioneros procedentes de diferentes especialidades que inician la actividad de la Genética Médica en los hospitales. En el inicio más temprano, son dos los pioneros: Andrés Sánchez Cascos en Madrid y Gerónimo Forteza Bover en Valencia.

Andrés Sánchez Cascos (1935-1993) cardiólogo de la Fundación Jiménez Díaz, realizó su tesis doctoral sobre cardiopatías congénitas y fue enviado por Carlos Jiménez Díaz al Guy's Hospital donde Paul Polani, pediatra, tras sus estudios en cardiopatías congénitas había creado la unidad de citogenética. A su regreso, en 1962 puso en marcha el laboratorio de Genética en la Fundación Jiménez Díaz donde poco después de la descripción del síndrome de Down en 1959 (63), publica un artículo describiendo 20 casos del síndrome de Down (400). El laboratorio de Genética de la Fundación Jiménez Díaz fue el crisol de la Genética en Madrid, allí se formaron los que iniciarían el resto de unidades de genética en otros hospitales: María Jesús Lautre en el Hospital Clínico de San Carlos, Emilia Barreiro, primero en el Hospital de la Paz y después en el Hospital 12 de Octubre, y Carlos San Román en el Hospital Ramón y Cajal. Andrés Sánchez Cascos fue uno de los fundadores de la Asociación Española de Genética Humana en 1971

La labor docente, una de las misiones prioritarias de la FJD, se vio plasmada en los primeros cursos de Genética que allí se impartieron, el primero en 1965, pero además, fue el primer y único hos-

pital en España que en los inicios de los que después sería el periodo formativo MIR, implantó la especialización en Genética Clínica con un programa MIR en el que se incluían rotaciones externas (Medicina Interna, Endocrinología , Pediatría y Ginecología), formación en el laboratorio de citogenética y formación en la consulta clínica de genética, incluido el consejo genético. Dado que poco después, se implantó el programa nacional de MIR, solo hubo 3 generaciones de residentes de Genética Clínica: Alicia Quintana, Marceliano Herránz y yo mismo.

El otro nodo de Genética en España fue el instituto de Investigaciones Citológicas de Valencia dirigido por Gerónimo Forteza Bover (1911-1975). Gerónimo Forteza citólogo primero y citogenetista hematológico después (401), fundó el Instituto de Investigaciones Citológicas en 1979, financiado por la Caja de Ahorros de Valencia. Allí se formaron los que luego crearían la Genética en el Hospital la Fe de Valencia, Félix Prieto, la Genética en la Universidad de Barcelona, Josep Egozcue y la Genética en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza, Manuel Tamparillas.

Poco después aparecen núcleos de Genética en otros lugares de España como La Coruña (Vicente Goyanes), Bilbao (Manuel Molina), Barcelona (Francisca Ballesta) o Salamanca (Agustín Ríos).

La mayoría de los pioneros en España, como en el resto del mundo, eran médicos y provenían de diferentes especialidades. Pero España, como la balsa de piedra descrita por José Saramago, se separó pronto del continente europeo. Una vez instaurado el programa oficial de formación de especialistas médicos, la Genética Médica o Clínica no fue considerada. Esto hizo que España, en el momento actual, junto con Grecia, sean los únicos países de la Unión Europea que no tienen reconocida la especialidad de Genética Médica. Este hecho no ha mermado la calidad de la genética en España, el nivel de conocimiento y de laboratorio es comparable al del resto de países europeos. El problema está en la carencia de genetistas clínicos que sean capaces de realizar el papel traslacional que se le pide al médico genetista: explicar la enfermedad a los pacientes y sus familias y, sobre todo, realizar un consejo genético adecuado, ya que en la parte final del proceso asistencial de la Genética Clínica, la carencia de un consejo genético hace que se pueda perder potencia en la interpretación de los resultados y se pueda perder la capacidad preventiva que hoy tiene la genética médica.

## TRES NOTAS FINALES

David Rimoin (118) en el discurso del «*Lidership Award*» que le concedió la Sociedad Americana de Genética Humana en 2006, reflexionando sobre los orígenes y sobre el futuro de la Genética Médica, dice: Es curioso que las denominadas especialidades «yuppies» atrajeron a una gran mayoría de los mejores estudiantes de medicina en la década pasada porque su potencial atracción siempre empezaba con una vocal. Por eso la radiología cambió su nombre por «imagen». Quizás debamos cambiar el nombre de genética por inheritología. ¿Debemos permanecer como generalistas? ¿Debemos de ser consultores o médicos de atención primaria? ¿Porque debemos de tener más éxito que los endocrinólogos o los inmunólogos, que fueron antes las especialidades académicas basadas en laboratorios? No podemos reclamar el genoma como nuestro territorio. Este ahora forma parte de cada especialidad médica. .... Estamos entrando en una nueva era en la que toda la medicina utiliza la metodología genética. Si hacemos nuestro trabajo de forma correcta, los futuros médicos estarán familiarizados con la genética y la genómica y serán capaces de interpretar adecuadamente los resultados del laboratorio molecular. Debemos continuar al frente de nuestra ciencia, descubriendo nuevos conocimientos, desarrollando nuevas tecnologías y esperando que se disemine en la medicina académica, en la práctica de la medicina y en la industria, de forma que estemos siempre dispuestos a tomar nuevos retos sin estar frenados por lo que pasa a ser rutina.»

Ahora me gustaría referirme a una palabra mágica, que siempre que se pronuncia hace que gran parte de la audiencia se ponga de parte del orador, es la palabra sostenibilidad. Quiero recordar aquí el discurso que pronunció el Profesor Ciril Rozman cuando se le nombro Académico de Honor de esta Real Academia Nacional de Medicina, en el que hablaba de la medicina buena y de la buena medicina, pero sobre todo hablaba de la sostenibilidad. Bien, lo que hacemos los genetistas en medicina es sostenibilidad cribando o decidiendo que test habría que hacer; hoy día hay pruebas genéticas para muchas situaciones, hay microarrays capaces de analizar multitud de variantes que en los estudios de asociación se han descrito como importantes a la hora de predecir. Difícilmente se puede sostener que realizar numerosos test genéticos sirve para hacer un diagnóstico diferencial, ni probablemente para hacer una medicina pre-

dictiva, la sostenibilidad está en hacer única y exclusivamente aquellas pruebas que, pudiendo interpretarse, tienen un beneficio para el paciente o el individuo.

Estamos en un momento en el que la sociedad cuestiona todo, es la filosofía del comienzo del siglo XXI. Se cuestionan los procedimientos técnicos, se cuestionan los abordajes científicos, se cuestiona la forma de diseñar los ensayos clínicos, se cuestiona la forma de peer-review a la hora de publicar los resultados clínicos o científicos, se cuestionan las citas bibliográficas, etc. Pero lo que seguirá incuestionable, sea cual sea la medicina a practicar —basada en la evidencia, tecnológica, etc.—, es el papel médico-enfermo o médico-individuo (no olvidemos el lado preventivo). Y aquí la Genética Clínica está posicionada, nunca ha olvidado su acto médico final, el consejo genético, es su minuto de oro, es el momento en el que el médico genetista transfiere su conocimiento, los conocimientos científicos, al paciente para que sea él el que haga frente a la enfermedad, a su prevención, por supuesto, con la ayuda del médico y de la medicina. No olvidando jamás que el paciente no está obligado a seguir las leyes de la biología o lo que creemos saber de ella, sino que el paciente es el que nos enseña cómo conocer su biología.

He dicho.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- (1) McKusick VA. History of medical genetics. In: Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR, editors. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2010. 3-36.
- (2) Harper P. *A short history of Medical Genetics*. New York: Oxford University Press; 2008.
- (3) Mendel G. Versuche über Pflanzen-hybriden. *Verhandlung des Naturforschenden Vereines in Brünn* 1866; 4:3-47.
- (4) Emery AEH, Mueller RF. *Elements of Medical Genetics*. 7 ed. Churchill Livingstone; 1992.
- (5) Adams J. *A treatise of the supposed hereditary properties of diseases*. London: Callow; 1814.
- (6) Digby K. Two treatises: In the one of which, The nature of bodies, In the other, The nature of man soule, Is looked into: In way of discovery of the immortality of reasonable soules. London: John Williams; 1645.
- (7) Mimouni D, Mimouni FB, Mimouni M. Polydactyly reported by Raphael. *BMJ* 2000; 321(7276):1622.
- (8) Martin A. Hereditary blindness. *Med Phys Recorder (Baltimore)* 1809; 1:273-279.

- (9) Flemming W. Zellsubsstanz. Leipzig: FCW Vogel; 1882.
- (10) Waldeyer W. Über karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen. Arch Mikrosk 1888; 32:1-122.
- (11) Wilson EB. The cell in development and heredity. New York: MacMillan; 1896.
- (12) Sutton WS. The chromosomes in heredity. Biol Bull 1903; 4:231-251.
- (13) Boveri T. Über mehrpolige mitosen als mittel zur analyse de zellkerns. Verh Phys-Med Ges Würzburg 1902;(35):67-90.
- (14) de Vries H. Das spaltungsaesetz der bastarde. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1900; 18:83-90.
- (15) Correns C. Mendel's regel über das verhalten der nachkommenschaft der rassenbastarde. Berichte der Deutzchen Botanischen Gessellschaft 1900; 18:158-168.
- (16) Tschermak E. Ueber künstliche kreuzung bei Pisum sativum. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1900;(18):232-239.
- (17) Painter TS. Studies in mammalian spermatogenesis II: the spermatogenesis of man. J Exp Zool 1923; 37:291-335.
- (18) Batteson W. Materials for the study of variation. Cambridge: Cambridge University Press; 1894.
- (19) Batteson W. The methods and scope of genetics. Cambridge: Cambridge University Press; 1908.
- (20) Pearson K. Treasury of human inheritance. London: Dulau; 1912.
- (21) Fisher RA. Correlation between relatives on the supposition of mendelian inheritance. Trans R Soc 1918; 52:399-433.
- (22) Weinberg W. Methode und fehlerquellen der untersuchung auf Mendel'schen zahlen beim menschen. Arch Rass Ges Biol 2010; 9:165-174.
- (23) Muller HJ. Artificial transmutation of the gene. Science 1927; 66:84-87.
- (24) Morgan TH. The theory of the gene. New Haven: Yale University Press; 2010.
- (25) Garrod A. Inborn errors of metabolism. London: Frowde; 1909.
- (26) Garrod A. About alkaptonuria. Lancet 1901; 2:1484-1486.
- (27) Cori GT, Cori CF. Glucose-6-phosphatase of the liver in glycogen storage disease. J Biol Chem 1952; 199(2):661-667.
- (28) Jervis GA. Phenylpyruvic oligophrenia (phenylketonuria). Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis 1954; 33:259-282.
- (29) Pauling L, Itano HA, . Sickle cell anemia a molecular disease. Science 1949; 110(2865):543-548.
- (30) Pauling L. Molecular disease and evolution. Bull N Y Acad Med 1964; 40:334-342.
- (31) Landsteiner K. Über agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes. Wien Klin Wochenschr 1901; 14:1132-1134.
- (32) Levine P, Stetson RE. Landmark article July 8, 1939. An unusual case of intra-group agglutination. By Philip Levine and Rufus E Stetson. JAMA 1984; 251(10):1316-1317.
- (33) Landsteiner K, Wiener AS. Studies on an agglutinogen (Rh) in human blood reacting with anti-Rhesus sera and with human isoantibodies. J Exp Med 1941; 74(4):309-320.
- (34) Hardy GH. Mendelian proportions in a mixed population. Science 1908; 28(706):49-50.

- (35) Bell J, Haldane JB. The linkage between the genes for colour-blindness and haemophilia in man. By Julia Bell and J.B.S. Haldane, 1937. *Ann Hum Genet* 1986; 50:3-34.
- (36) Fisher RA. *Statistical methods for research workers*. Edinburgh: Oliver and Boyd; 1925.
- (37) Fisher RA. *The genetical theory of natural selection*. Oxford: Oxford University Press; 1930.
- (38) Galton F. *Natural Inheritance*. London: MacMillan; 1889.
- (39) Mange EJ, Mange AP. *Basic Human Genetics*. Sunderland: Sinauer; 1994.
- (40) Davenport CB. *Eugenics: The science of human improvement by better breeding*. New York: Henry Holt; 1910.
- (41) Cummings MR. *Herencia Humana: Principios y conceptos*. 3 ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 1995.
- (42) Robinson WJ. *Eugenics, marriage and birth control: Practical eugenics*. New York: Critic and Guide Society; 1922.
- (43) Kevles DJ. *In the Name of Eugenics*. New York: Harvard University Press; 1995.
- (44) Armstrong CW. *The survival of the unfittest*. London: Daniel; 1927.
- (45) Ploetz A. *Die Tüchtigkeit unserer Rasse und der Schutz der Schwachen: Ein Versuch über Rassenhygiene und ihr Verhältnis zu den humanen Idealen, besonders zum Sozialismus*. Berlin: S. Fisher; 1895.
- (46) Vogel F, Motulsky AG. *Human Genetics: Problems and approaches*. Berlin: Springer-Verlag; 1979.
- (47) von Verschuer O. Was kann der Historiker, der Genealoge und der Statistiker zur Erforschung des biologischen Problems der Judenfrage beitragen? *Forschungen zur Judenfrage* 1937; 2:216-222.
- (48) Joravsky D. *The Lysenko affair*. Boston: Harvard University Press; 1970.
- (49) Tjio JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas* 1956; 42:1-6.
- (50) Ford CE, Hamerton JL. The chromosomes of man. *Acta Genet Stat Med* 1956; 6(2):264-266.
- (51) Hsu TC. Mammalian chromosomes in vitro. 1. The karyotype of man. *J Hered* 1952; 43:167-172.
- (52) Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960; 20:613-616.
- (53) Winiwarter H. Études sur la spermatogenèse humaine. *Arch Biol* 1912; 27:91-189.
- (54) Painter TS. The Y-chromosome in mammals. *Science* 1921; 53:503-504.
- (55) Levan A. The effect of colchicine on root mitoses of *Allium*. *Hereditas* 1938; 24:471-486.
- (56) Slifer EH. Insect development: VI. The behavior of grasshopper embryos in anisotonic, balanced salt solution. *J Exp Zool* 1934; 67:137-157.
- (57) Hughes A. Some effects of abnormal tonicity on dividing cells in chick tissue cultures. *Quart J Microscopical Sci* 1952; 93:207-220.
- (58) Makino S, Nishimura I. Water-pretreatment squash technic; a new and simple practical method for the chromosome study of animals. *Stain Technol* 1952; 27(1):1-7.
- (59) Harper PS. The discovery of the human chromosome number in Lund, 1955-1956. *Hum Genet* 2006; 119(1-2):226-232.

- (60) Hulten MA. Numbers, bands and recombination of human chromosomes: Historical anecdotes from a Swedish student. *Cytogenet Genome Res* 2002; 96(1-4):14-19.
- (61) Arnason U. 50 years after—examination of some circumstances around the establishment of the correct chromosome number of man. *Hereditas* 2006; 143(2006):202-211.
- (62) Gartler SM. The chromosome number in humans: a brief history. *Nat Rev Genet* 2006; 7(8):655-660.
- (63) Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children. *C R Hebd Seances Acad Sci* 1959; 248(11):1721-1722.
- (64) Jacobs PA, Strong JA. A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 1959; 183(4657):302-303.
- (65) Ford CE, Jones KW, Polani PE, De Almeida JC, Briggs JH. A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *Lancet* 1959; 1(7075):711-713.
- (66) Jacobs PA, Baikie AG, Brown WM, MacGregor TN, Maclean N, Harnden DG. Evidence for the existence of the human «super female». *Lancet* 1959; 2(7100):423-425.
- (67) Sandberg AA, Ishihara T, Crosswhite LH, Koepf GF. XYY genotype. Report of a case in a male. *N Engl J Med* 1963; 268:585-589.
- (68) Nowell PC. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes. *Cancer Res* 1960; 20:462-466.
- (69) Nowell PC, Hungerford DA. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J Natl Cancer Inst* 1960; 25:85-109.
- (70) Waardenburg PL. *Das menschliche auge und seine eberlangen*. Den Haag Nijhoff 1932;47-48.
- (71) Davenport CB. Mendelism in man. *Proceedings of the sixth International Congress of Genetics, Ithaca, New York 1932*; 1:135-140.
- (72) Polani PE, Briggs JH, Ford CE, Clarke CM, Berg JM. A Mongol girl with 46 chromosomes. *Lancet* 1960; 1(7127):721-724.
- (73) Carter CO, Hamerton JL, Polani PE, Gunalp A, Weller SD. Chromosome translocation as a cause of familial mongolism. *Lancet* 1960; 2(7152):678-680.
- (74) Barr ML, Bertram EG. A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature* 1949; 163(4148):676.
- (75) Polani PE, Hunter WF, Lennox B. Chromosomal sex in Turner's syndrome with coarctation of the aorta. *Lancet* 1954; 267(6829):120-121.
- (76) Ford CE, Polani PE, Briggs JH, Bishop PM. A presumptive human XXY/XX mosaic. *Nature* 1959; 183(4667):1030-1032.
- (77) Jacobs PA, Brunton M, Melville MM, Brittain RP, McClellont WF. Aggressive behavior, mental sub-normality and the XYY male. *Nature* 1965; 208(5017):1351-1352.
- (78) Edwards JH. The simulation of mendelism. *Acta Genet Stat Med* 1960; 10:63-70.
- (79) Patau K, Smith DW, Therman E, Inhorn SL, Wagner HP. Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome. *Lancet* 1960; 1(7128):790-793.

- (80) Nowell PC. Discovery of the Philadelphia chromosome: a personal perspective. *J Clin Invest* 2007; 117(8):2033-2035.
- (81) Koretzky GA. The legacy of the Philadelphia chromosome. *J Clin Invest* 2007; 117(8):2030-2032.
- (82) Boveri T. *Zur frage der entstebung maligner tumoren*. Jena: Gustav Fischer; 1914.
- (83) Bayreuther K. Chromosomes in primary neoplastic growth. *Nature* 1960; 186:6-9.
- (84) Tough IM, Court Brown WM, Baikie AG, Buckton KE, Harnden DG, Jacobs PA et al. Cytogenetic studies in chronic myeloid leukaemia and acute leukaemia associated with monogolism. *Lancet* 1961; 1(7174):411-417.
- (85) Prieto F, Egozcue J, Forteza G, Marco F. Identification of the Philadelphia (Ph-1) chromosome. *Blood* 1970; 35(1):23-27.
- (86) Rowley JD. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973; 243(5405):290-293.
- (87) An international system for human cytogenetic nomenclature (1978) ISCN (1978). Report of the Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. *Cytogenet Cell Genet* 1978; 21(6):309-409.
- (88) A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *Lancet* 1960; 1(7133):1063-1065.
- (89) A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes (Denver, Colorado). *Ann Hum Genet* 1960; 24:319-325.
- (90) A Proposed Standard System on Nomenclature of Human Mitotic Chromosomes. *Am J Hum Genet* 1960; 12(3):384-388.
- (91) Hamerton JL, Klinger HP, Mutton DE, Lang EM. The London Conference on the normal human karyotype, 28TH-30TH August, 1963. *Cytogenetics* 1963; 25:264-268.
- (92) Chicago Conference. Standardization in human cytogenetics. *Birth Defects: Original Article Series* ed. New York: 1966.
- (93) Paris Conference. Standardization in Human Cytogenetics. *Birth Defects: Original Article Series* ed. New York: 1971.
- (94) An international system for human cytogenetic nomenclature—high-resolution banding (1981). ISCN (1981). Report of the Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. *Cytogenet Cell Genet* 1981; 31(1):5-23.
- (95) ISCN (2005). *An International System for Human Cytogenetics: Nomenclature*. Basel: S Karger; 2005.
- (96) ISCN (2009). *An International System for Human Cytogenetics: Nomenclature*. Basel: S Karger; 2009.
- (97) Caspersson T, Zech L, Johansson C. Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents. *Exp Cell Res* 1970; 62(2):490-492.
- (98) Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971; 2(7731):971-972.
- (99) Dutrillaux B, Lejeune J. [A new technic of analysis of the human karyotype]. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 1971; 272(20):2638-2640.
- (100) Yunis JJ. High resolution of human chromosomes. *Science* 1976; 191(4233):1268-1270.

- (101) Latt SA. Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973; 70(12):3395-3399.
- (102) Perry P, Wolff S. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature* 1974; 251(5471):156-158.
- (103) Honma M, Tadokoro S, Sakamoto H, Tanabe H, Sugimoto M, Furuichi Y et al. Chromosomal instability in B-lymphoblastoid cell lines from Werner and Bloom syndrome patients. *Mutat Res* 2002; 520(1-2):15-24.
- (104) Degrassi F, De SR, Tanzarella C, Palitti F. Induction of chromosomal aberrations and SCE by camptothecin, an inhibitor of mammalian topoisomerase I. *Mutat Res* 1989; 211(1):125-130.
- (105) Waardenburg PL, Franceschetti A, Klein D. *Genetics and Ophthalmology*. Assen, Netherlands: Royal van Gorcum; 1961.
- (106) Cockayne EA. *Inherited Abnormalities of the Skin and its Appendages*. London: Oxford University Press; 1933.
- (107) Mohr OL. *Heredity an Disease*. New York: Norton; 1934.
- (108) Fraser Roberts JA. *An Introduction to Medical Genetics*. London: Oxford University Press; 1940.
- (109) Kemp T. *Genetics and Disease*. Copenhagen: Munksgaard; 1951.
- (110) Stern K. *Human Genetics*. San Francisco: WH Freeman; 1950.
- (111) McKusick VA. The growth and development of human genetics as a clinical discipline. *Am J Hum Genet* 1975; 27(3):261-273.
- (112) Ferguson-Smith MA, Johnston AW, Handmakers SD. Primary amentia and micro-orchidism associated with an XXXY sex-chromosome constitution. *Lancet* 1960; 2(7143):184-187.
- (113) Lesch M, Nyhan WL. A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function. *Am J Med* 1964; 36:561-570.
- (114) Jacobson CB, Barter RH. Intrauterine diagnosis and management of genetic defects. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 99(6):796-807.
- (115) Valenti C, Schutta EJ, Kehaty T. Prenatal diagnosis of Down's syndrome. *Lancet* 1968; 2(7561):220.
- (116) Nadler HL. Antenatal detection of hereditary disorders. *Pediatrics* 1968; 42(6):912-918.
- (117) Nadler HL, Gerbie AB. Role of amniocentesis in the intrauterine detection of genetic disorders. *N Engl J Med* 1970; 282(11):596-599.
- (118) Rimoin DL. 2006 ASHG Leadership Award. A half century of medical genetics—where do we go from here? *Am J Hum Genet* 2007; 81(4):670-672.
- (119) Hecht F, Prescott GH. Trends and Teaching in Clinical Genetics. The National Foundation March of Dimes, Vol XIII, 1977, pp 1-7.
- (120) Rimoin DL. The delivery of genetic services. The National Foundation March of Dimes, Vol XIII, 1977, pp 105-123.
- (121) Opitz JM, Herrmann J. The study of genetic diseases and malformations. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1977; 13(6):45-66.
- (122) Smith DW. *Recognizable patterns of human malformations*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1970.
- (123) Hunter AG. Medical genetics: 2. The diagnostic approach to the child with dysmorphic signs. *CMAJ* 2002; 167(4):367-372.
- (124) McKusick VA. The Gordon Wilson Lecture: The clinical legacy of Jonathan Hutchinson (1828-1913): syndromology and dysmorphology meet genomics. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2005; 116:15-38.:15-38.

- (125) LDDDB. URL:<http://www.lmddatabases.com>
- (126) POSSUM web. URL:<http://www.possun.net.au/>
- (127) Cummins H, Midlo C. Palmar and plantar epidermal ridge configurations (dermatoglyphics) in European-Americans. *Am J Phys Anthropol* 1926; 9:471-502.
- (128) Galton F. *Finger prints*. London: Mcmillan and Co.; 1892.
- (129) Cummins H. Dermatoglyphic stigmata in mongoloid imbeciles. *Anat Rec* 1939; 73:407-415.
- (130) Furuhashi T. The differences of the index of finger prints according to race. *Jpn Med World* 1927; 7:162-164.
- (131) Macarthur JW, Ford NHC. A biological study of the Dionne Quintuplets. An identical set. Toronto: Toronto University Press; 1937. 3-41.
- (132) Newman HH. The finger prints of twins. *J Genet* 1930; 23:415-446.
- (133) Quantitative genetics of dermal ridges. 1957.
- (134) Cummins H, Midlo C. *Finger Prints, Palms, and Soles*. Philadelphia: Blakinston; 1943.
- (135) Ford Walker N. The use of dermal configuration in the diagnosis of mongolism. *J pediat* 1957; 50:19-26.
- (136) Uchida IA, Patau K, Smith DW. Dermal patterns of 18 and D1 trisomics. *Am J Hum Genet* 1962; 14:345-352.
- (137) Miller OJ, Breg WR, Schmickel RD, Tretter W. A family with an XXXXY male, a leukaemic male, and two 21-trisomic mongoloid females. *Lancet* 1961; 2(7193):78-79.
- (138) Sanchez CA. Las huellas dactilares en las cardiopatías congénitas. *Rev Esp Cardiol* 1964; 17(2):350-351.
- (139) Sanchez CA, Garcia Sagredo JM. [Genetics of interventricular communication]. *Rev Esp Cardiol* 1974; 27(5):365-373.
- (140) Cascos AS, Sagredo JM. Genetics of patent ductus arteriosus. *Basic Res Cardiol* 1975; 70(4):456-466.
- (141) Garcia-Sagredo JM. Herencia y dermatoglifos en la Diabetes Mellitus. *Rev Clin Esp* 1975; 137:119-123.
- (142) San RC, Lautre MJ, Sanchez CA. Modelos dermatoglíficos en la población general. *Rev Clin Esp* 1971; 120:11.
- (143) Wertelecki W. Dermatoglyphic investigations: expanding prospects. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1991; 27(2):65-93.
- (144) Holt SB, Lindsten J. Dermatoglyphic anomalies in Turner's syndrome. *Ann Hum Genet* 1964; 28:87-100.:87-100.
- (145) Holt SB, Niebuhr E. Dermatoglyphics in «Cri du Chat» syndrome (5p-). *Birth Defects Orig Artic Ser* 1979; 15(6):565-589.
- (146) Reed T. Dermatoglyphics in medicine—problems and use in suspected chromosome abnormalities. *Am J Med Genet* 1981; 8(4):411-429.
- (147) Sank D, Firschein BD. Fingerprints and laterality preferences of early-onset autism. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1979; 15(6):679-695.
- (148) Vormittag W, Weninger M, Hollmann K, Hoffmann D. Heterogeneity of cleft lip and/or palate and dermatoglyphics. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1979; 15(6):649-659.
- (149) Rosner F, Steinberg FS, Spriggs HA. Dermatoglyphic patterns in patients with selected neurological disorders. *Am J Med Sci* 1967; 254(5):695-708.
- (150) Schaumann B, Mayersdorf A. Dermatoglyphics in epilepsy. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1979; 15(6):627-633.

- (151) Gabalda MK, Compton MT. Dermatoglyphic indices and minor physical anomalies in patients with schizophrenia and related disorders, their first-degree biological relatives, and non psychiatric controls. *Psychiatry Res* 2010; 178(2):255-259.
- (152) Glamuzina L, Mihanovic M, Milicic J, Devcic S, Restek-Petrovic B. Comparative study on dermatoglyphics in patients with PTSD. *Coll Antropol* 2009; 33(4):1303-1309.
- (153) Harris H. Enzyme and protein polymorphism in human populations. *Br Med Bull* 1969; 25(1):5-13.
- (154) Levine MD, Kaback MM, Griffin D. Prenatal genetic diagnosis (PGD) in North America, results of a 1974 survey. *Am J Hum Genet* 1975; 27:58A.
- (155) Kaback MM. Antenatal diagnosis: Report of a consensus developmental conference. *National Institutes of Health*, 80, 1-57. 1973.
- (156) Evans MI, Koppich FC, III, Nemitz B, Quigg MH, Zador IE. Early genetic amniocentesis and chorionic villus sampling. Expanding the opportunities for early prenatal diagnosis. *J Reprod Med* 1988; 33(5):450-452.
- (157) Rodeck CH, Campbell S. Umbilical-cord insertion as source of pure fetal blood for prenatal diagnosis. *Lancet* 1979; 1(8128):1244-1245.
- (158) Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. [Direct collection of fetal blood from the umbilical vein under echography. First results, prospects]. *Presse Med* 1983; 12(16):1017.
- (159) Brock DJ, Sutcliffe RG. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 1972; 2(7770):197-199.
- (160) Lenz W, Pfeiffer RA, Tunte W. Supernumerary chromosomes (trisomies) and maternal age. *Ger Med Mon* 1967; 12(1):27-30.
- (161) McKusick VA. Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive, and X-linked phenotypes . 1st ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1966.
- (162) Nebert DW, Zhang G, Vesell ES. From human genetics and genomics to pharmacogenetics and pharmacogenomics: past lessons, future directions. *Drug Metab Rev* 2008; 40(2):187-224.
- (163) OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man. 2010. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
- (164) McKusick VA. The morbid anatomy of the human genome: a review of gene mapping in clinical medicine (1). *Medicine (Baltimore)* 1986; 65(1):1-33.
- (165) McKusick VA. The human genome through the eyes of Mercator and Vesalius. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1981; 92:66-90.
- (166) Stanyon R, Rocchi M, Capozzi O, Roberto R, Misceo D, Ventura M et al. Primate chromosome evolution: ancestral karyotypes, marker order and neocentromeres. *Chromosome Res* 2008; 16(1):17-39.
- (167) Thompson H. Abnormalities of the autosomal chromosomes associated with human disease: selected topics and catalogue. *Am J Med Sci* 1965; 250(6):718-734.
- (168) Borgaonkar DS. Chromosomal variation in man. A catalog of chromosomal variants and anomalies. Baltimore: John Hopkins University Press; 1975.
- (169) Borgaonkar DS. Chromosomal Variation in Man Online Database. 2005 URL:<http://www.wiley.com/legacy/products/subject/life/borgaonkar/index.html>

- (170) Schinzel A. Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man. 2nd ed. Berlin: Walter de Gruyter; 2001.
- (171) Mendelian Cytogenetics Network. [ 2010 Available from: URL:<http://www.mcndb.org>
- (172) Mitelman F, Mertens F, Johansson B. Mitelman database of chromosome aberrations and gene fusions in cancer. 2010 URL:<http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>
- (173) Huret JL. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology . 2010 URL:<http://AtlasGeneticsOncology.org>
- (174) German J. The pattern of DNA synthesis in the chromosomes of human blood cells. *J Cell Biol* 1964; 20:37-55.:37-55.
- (175) Ferguson-Smith MA. The sites of nucleolus formation in human pachytene chromosomes. *Cytogenetics* 1964; 48:124-34.:124-134.
- (176) Carr DH. Chromosome anomalies as a cause of spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 97(3):283-293.
- (177) Court-Brown WM, Jacobs P, Buckton KE, Tough IM, Kuenssberg EV, Knox JDE. *Chromosome Studies on Adults*. 1966. London, Cambridge Univ. Press . Eugenics Laboratory Memoirs XLII.
- (178) Jacobs PA, Brunton M, Melville MM, Brittain RP, McClemon WF. Aggressive behavior, mental sub-normality and the XYY male. *Nature* 1965; 208(5017):1351-1352.
- (179) Hook EB. Behavioral implications of the human XYY genotype. *Science* 1973; 179(69):139-150.
- (180) Jacobs PA. The William Allan Memorial Award address: human population cytogenetics: the first twenty-five years. *Am J Hum Genet* 1982; 34(5):689-698.
- (181) Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J et al. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 1980; 44(Pt 2):151-178.
- (182) Lubs HA. A marker X chromosome. *Am J Hum Genet* 1969; 21(3):231-244.
- (183) Sutherland GR, Richards RI. Dynamic mutations on the move. *J Med Genet* 1993; 30(12):978-981.
- (184) Lyon MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *Nature* 1961; 190:372-373.
- (185) Weiss MC, Green H. Human-mouse hybrid cell lines containing partial complements of human chromosomes and functioning human genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1967; 58(3):1104-1111.
- (186) Donahue RP, Bias WB, Renwick JH, McKusick VA. Probable assignment of the Duffy blood group locus to chromosome 1 in man. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1968; 61(3):949-955.
- (187) Francke U. Cytogenetics and somatic cell genetics: the impact of chromosome banding. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1977; 13(6):79-103.
- (188) Malpuech G, Dutrillaux B, Fonck Y, Gaulme J, Bouche B. [Trisomy 8 with mosaicism]. *Arch Fr Pediatr* 1972; 29(8):853-859.
- (189) Rethore MO, Ferrand J, Dutrillaux B, Lejeune J. [Trisomy 9p gy t(4; 9)(q 34; q21) mat]. *Ann Genet* 1974; 17(3):157-161.
- (190) Wilson MG, Towner JW, Negus LD. Wolf-Hirschhorn syndrome associated with an unusual abnormality of chromosome no. 4. *J Med Genet* 1970; 7(2):164-170.

- (191) Lejeune J, Gautier M, Lafourcade J, Berger R, Turpin R. [Partial deletion of the short arm of the 5 chromosome: The 5th case of crying cat syndrome.]. *Ann Genet* 1964; 7:7-10.:7-10.
- (192) Orye E, Delbeke MJ, Vandenabeele B. Retinoblastoma and long arm deletion of chromosome 13. Attempts to define the deleted segment. *Clin Genet* 1974; 5(5):457-464.
- (193) Manolov G, Manolova Y. Marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas. *Nature* 1972; 237(5349):33-34.
- (194) Levan A. Some current problems of cancer cytogenetics. *Hereditas* 1967; 57(3):343-355.
- (195) Mitelman F, Mark J, Levan G, Levan A. Tumor etiology and chromosome pattern. *Science* 1972; 176(41):1340-1341.
- (196) Mark J, Levan G, Mitelman F. Identification by fluorescence of the G chromosome lost in human meningiomas. *Hereditas* 1972; 71(1):163-168.
- (197) De la Chapelle A, Schroder J, Vuopio P. 8-Trisomy in the bone marrow. Report of two cases. *Clin Genet* 1972; 3(6):470-476.
- (198) Reeves BR, Lobb DS, Lawler SD. Identity of the abnormal F-group chromosome associated with polycythaemia vera. *Humangenetik* 1972; 14(2):159-161.
- (199) Rowley JD. Molecular cytogenetics: Rosetta stone for understanding cancer—twenty-ninth G. H. A. Clowes memorial award lecture. *Cancer Res* 1990; 50(13):3816-3825.
- (200) Heim S, Mitelman F. Cancer cytogenetics. Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells. 3rd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2009.
- (201) Sax K. Chromosome aberrations induced by X-rays. *Genetics* 1938; 23:494-516.
- (202) Sax K. An analysis of X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. *Genetics* 1940; 25:41-68.
- (203) Catcheside DG, Lea DE, Today JM. Types of chromosome structural changes induced by the irradiation of *Tradescantia* microspores. *J Genet* 47:113-136, 1946. *J Genet* 1946; 47(113):136.
- (204) Auerbach C, Robson JM. Chemical production of mutations. *Nature* 1946; 157:302.
- (205) Sparrow AH. Types of ionizing radiation and their cytogenetic effects. *Mutation and Plant*. National Academy of Sciences Research Council; 1961. 891.
- (206) Kihlman BA. Actions of chemicals on dividing cells. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ; 1966.
- (207) Tough IM, Buckton KE, Baikie AG, Court-Brown WM. X-ray-induced chromosome damage in man. *Lancet* 1960; 2:849-851.
- (208) Bender MA, Gooch PC. Persistent chromosome aberrations in irradiated human subjects. *Radiat Res* 1962; 16:44-53.
- (209) Bloom AD, Tjio JH. In vivo effects of diagnostic X-irradiation on human chromosomes. *N Engl J Med* 1964; 270:1341-1344.
- (210) Boyd JT, Brown WM, Vennart J, Woodcock GE. Chromosome studies on women formerly employed as luminous-dial painters. *Br Med J* 1966; 5484:377-382.

- (211) Court-Brown WM, Buckton KE, McLean AS. Quantitative studies of chromosome aberrations in man following acute and chronic exposure to X-rays and gamma rays. *Lancet* 1965; 1:1239-1241.
- (212) Awa AA, Bloom AD, Yoshida MC, Meriishi S, Archer PG. Cytogenetic study of the offspring of atom bomb survivors. *Nature* 1968; 218(139):367-368.
- (213) Sofuni T, Shimba H, Ohtaki K, Awa AA. A cytogenetic study of Hiroshima atomic-bomb survivors. In: Evans HJ, Lloyd DC, editors. *Mutagen-induced chromosome damage in man*. Edinburg: Edinburgh University Press; 1978. 108-114.
- (214) Hamper B, Elison SA. Chromosomal aberrations induced by animal virus. *Nature* 192:145-147, 1961. *Nature* 1961; 192:145-147.
- (215) Conen PE, Lansky GS. Chromosome damage during nitrogen mustard therapy. A case report. *Br Med J* 1961; 5259:1055-1057.
- (216) Arrighi FE, Hsu TC, Bergsagel DE. Chromosome damage in murine and human cells following cytoxan therapy. *Tex Rep Biol Med* 1962; 20:545-549.
- (217) Brewen JG. The induction of chromatid lesions by cytosine arabinoside in post-DNA synthetic human leukocytes. *Cytogenetics* 1965; 87:28-36.
- (218) Jensen MK. Chromosome studies in patients treated with azathioprine and amethopterin. *Acta Med Scand* 1967; 182(4):445-455.
- (219) Bischoff R, Holtzer H. The effect of mitotic inhibitors on myogenesis in vitro. *J Cell Biol* 1967; 36:111-127.
- (220) Cohen MM, Shaw MW, Craig AP. The effects of streptonigrin on cultured human leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1963; 50:16-24.
- (221) Vig BK, Kontras SB, Paddock EF, Samuels LD. Daunomycin-induced chromosomal aberrations and the influence of arginine in modifying the effect of the drug. *Mutat Res* 1968; 5(2):279-287.
- (222) Stevenson AC, Bedford J, Hill AG, Hill HF. Chromosomal studies in patients taking phenylbutazone. *Ann Rheum Dis* 1971; 30(5):487-500.
- (223) Pollini G, Colombi R. Il danno cromosomico dei linfociti nell' emopatia benzinica. *Med Laboro* 1964; 55:641-654.
- (224) Vigliani EC, Saita G. Benzene and leukemia. *N Engl J Med* 1964; 271: 872-876.
- (225) Ducatman A, Hirschhorn K, Selikoff IJ. Vinyl chloride exposure and human chromosome aberrations. *Mutat Res* 1975; 31(3):163-168.
- (226) Auerbach C. The chemical production of mutations. The effect of chemical mutagens on cells and their genetic material is discussed. *Science* 1967; 158(805):1141-1147.
- (227) Evans HJ. Populations cytogenetics and environmental factors. In: Jacobs PA, Price, Low, editors. *Human population cytogenetics*. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1970. 191-216.
- (228) Uchida IA, Curtis EJ. A possible association between maternal radiation and mongolism. *Lancet* 1961; 2:848-850.
- (229) Auerbach C. History of Research on Chemical Mutagenesis. In: Hollaender A, editor. *Chemical Mtagens: Principles and Methods for their Detection*. New York: Plenum Press; 1973. 1-19.
- (230) Hagmar L, Bonassi S, Stromberg U, Brogger A, Knudsen LE, Norppa H et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 1998; 58(18):4117-4121.

- (231) Aardema MJ, Albertini S, Arni P, Henderson LM, Kirsch-Volders M, Mackay JM et al. Aneuploidy: a report of an ECETOC task force. *Mutat Res* 1998; 410(1):3-79.
- (232) Au WW, Badary OA, Heo MY. Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. *Occup Med* 2001; 16(2):345-357.
- (233) Evans HJ, O'Riordan ML. Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. *Mutat Res* 1975; 31(3):135-148.
- (234) Zwiener C, Richardson SD, De Marini DM, Grummt T, Glauner T, Frimmel FH. Drowning in disinfection byproducts? Assessing swimming pool water. *Environ Sci Technol* 2007; 41(2):363-372.
- (235) International Atomic Energy Agency. Biological dosimetry. Chromosomal aberrations analysis for dose assessment. [10/260]. 1986. Vienna, IAEA STI/PUB.
- (236) Finnon P, Lloyd DC, Edwards A. Progress in automatic dicentric hunting. In: Obe G, Natarajan AT, editors. *Chromosomal aberrations Origin and significance*. Berlin: Springer-Verlag; 1994. 191-202.
- (237) Green DK, Neurath PW. The design, operation and evaluation of a high speed automatic metaphase finder. *J Histochem Cytochem* 1974; 22(7): 531-535.
- (238) Castleman KR, Melnyk J, Frieden HJ, Persinger GW, Wall RJ. Computer-assisted karyotyping. *J Reprod Med* 1976; 17(1):53-57.
- (239) Lundsteen C, Gerdes T, Maahr J, Philip J. Clinical performance of a system for semiautomated chromosome analysis. *Am J Hum Genet* 1987; 41(3):493-502.
- (240) Garcia-Sagredo JM. Proposal for evaluation of cytogenetic laboratories in order to plan the installation and determine the cost effectiveness of automated chromosome analysis systems. In: Lundsteen C, Piper J, editors. *Automation of cytogenetics*. Berlin: Springer-Verlag; 1989. 81-91.
- (241) Garcia-Sagredo JM. Performance of an semiautomatic system for chromosome analysis in scoring aberrations: Application to analyze the effect of low-level 50Hz electromagnetic fields on human chromosomes in vitro. In: Burger G, Oberholzer M, Vooijs GP, editors. *Advances in analytical cellular pathology*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1990. 65-66.
- (242) Garcia-Sagredo JM, Piper J, Rutovitz D, Vaquero JJ, Vazquez-Mazariego Y. Automatic scoring of sister chromatid exchanges by image analysis in a dose response experiment. *Environ Mol Mutagen* 1994; 23(3):194-199.
- (243) Hassold TJ, Matsuyama A, Newlands IM, Matsuura JS, Jacobs PA, Manuel B et al. A cytogenetic study of spontaneous abortions in Hawaii. *Ann Hum Genet* 1978; 41(4):443-454.
- (244) Robinson WP, McFadden DE, Stephenson MD. The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy. *Am J Hum Genet* 2001; 69(6):1245-1254.
- (245) Maxwell WA, Newell GW. Considerations for evaluating chemical mutagenicity to germinal cells. *Environ Health Perspect* 1973; 6:47-50.
- (246) Brewen JG, Preston RJ. Chromosome aberrations as a measure of mutagenesis: comparisons in vitro and in vivo and in somatic and germ cells. *Environ Health Perspect* 1973; 6:157-166.

- (247) Brewen JG, Preston RJ, Jones KP, Gosslee DG. Genetic hazards of ionizing radiations: cytogenetic extrapolations from mouse to man. *Mutat Res* 1973; 17(2):245-254.
- (248) Tarkowski AK. An air-drying method for chromosome preparations from mouse eggs. *Cytogenetics* 1966; 5:394-400.
- (249) Evans EP, Breckon G, Ford CE. An air-drying method for meiotic preparations from mammalian testes. *Cytogenetics* 1964; 15:289-294.
- (250) Robbins WA, Meistrich ML, Moore D, Hagemeister FB, Weier HU, Cassel MJ et al. Chemotherapy induces transient sex chromosomal and autosomal aneuploidy in human sperm. *Nat Genet* 1997; 16(1):74-78.
- (251) Harkonen K. Pesticides and the induction of aneuploidy in human sperm. *Cytogenet Genome Res* 2005; 111(3-4):378-383.
- (252) Baumgartner A, Van HP, Lowe XR, Adler ID, Wyrobek AJ. Numerical and structural chromosomal abnormalities detected in human sperm with a combination of multicolor FISH assays. *Environ Mol Mutagen* 1999; 33(1):49-58.
- (253) Martin R. Human sperm chromosome complements in chemotherapy patients and infertile men. *Chromosoma* 1998; 107(6-7):523-527.
- (254) Egozcue J, Blanco J, Vidal F. Chromosome studies in human sperm nuclei using fluorescence in-situ hybridization (FISH). *Hum Reprod Update* 1997; 3(5):441-452.
- (255) Griffin DK, Abruzzo MA, Millie EA, Sheean LA, Feingold E, Sherman SL et al. Non-disjunction in human sperm: evidence for an effect of increasing paternal age. *Hum Mol Genet* 1995; 4(12):2227-2232.
- (256) Ferguson-Smith MA. The reduction of anencephalic and spina bifida births by maternal serum alpha-fetoprotein screening. *Br Med Bull* 1983; 39(4):365-372.
- (257) Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148(7):886-894.
- (258) Clarke Fraser F. The development of genetic counseling. Genetic counseling: Facts, values, and norms.[XV. n° 2], 5-15. 1979. *Birth Defects: Original Article Series*.
- Ref Type: Serial (Book, Monograph)
- (259) Fraser FC. Medical genetics in pediatrics. *J Pediatr* 1954; 44(1):85-103.
- (260) McKusick VA. The William Allan Memorial Award Lecture: Genetic nosology: three approaches. *Am J Hum Genet* 1978; 30(2):105-122.
- (261) Smith HO, Tomb JF, Dougherty BA, Fleischmann RD, Venter JC. Frequency and distribution of DNA uptake signal sequences in the *Haemophilus influenzae* Rd genome. *Science* 1995; 269(5223):538-540.
- (262) Woo SL, Lidsky AS, Guttler F, Chandra T, Robson KJ. Cloned human phenylalanine hydroxylase gene allows prenatal diagnosis and carrier detection of classical phenylketonuria. *Nature* 1983; 306(5939):151-155.
- (263) Marvit J, DiLella AG, Brayton K, Ledley FD, Robson KJ, Woo SL. GT to AT transition at a splice donor site causes skipping of the preceding exon in phenylketonuria. *Nucleic Acids Res* 1987; 15(14):5613-5628.
- (264) Godfrey M. Molecular heterogeneity: a clinical dilemma. *Clinical heterogeneity: a molecular dilemma. Am J Hum Genet* 1993; 53(1):22-25.
- (265) Langer PR, Waldrop AA, Ward DC. Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78(11):6633-6637.

- (266) Bauman JG, Wiegant J, Borst P, van DP. A new method for fluorescence microscopical localization of specific DNA sequences by in situ hybridization of fluorochromelabelled RNA. *Exp Cell Res* 1980; 128(2): 485-490.
- (267) Lichter P, Cremer T, Borden J, Manuelidis L, Ward DC. Delineation of individual human chromosomes in metaphase and interphase cells by in situ suppression hybridization using recombinant DNA libraries. *Hum Genet* 1988; 80(3):224-234.
- (268) Cremer T, Popp S, Emmerich P, Lichter P, Cremer C. Rapid metaphase and interphase detection of radiation-induced chromosome aberrations in human lymphocytes by chromosomal suppression in situ hybridization. *Cytometry* 1990; 11(1):110-118.
- (269) Mitelman F. Recurrent chromosome aberrations in cancer. *Mutat Res* 2000; 462(2-3):247-253.
- (270) Speicher MR, Carter NP. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet* 2005; 6(10):782-792.
- (271) Pinkel D, Landegent J, Collins C, Fuscoe J, Segraves R, Lucas J et al. Fluorescence in situ hybridization with human chromosome-specific libraries: detection of trisomy 21 and translocations of chromosome 4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85(23):9138-9142.
- (272) Christian A, McNeil E, Robinson J, Drabek R, LaRue S, Waldren C et al. A versatile image analysis approach for simultaneous chromosome identification and localization of FISH probes. *Cytogenet Cell Genet* 1998; 82(3-4):172-179.
- (273) Natarajan AT, Santos SJ, Darroudi F, Hadjidikova V, Vermeulen S, Chatterjee S et al. 137Cesium-induced chromosome aberrations analyzed by fluorescence in situ hybridization: eight years follow up of the Goiania radiation accident victims. *Mutat Res* 1998; 400(1-2):299-312.
- (274) Bauchinger M. Retrospective dose reconstruction of human radiation exposure by FISH/chromosome painting. *Mutat Res* 1998; 404(1-2):89-96.
- (275) Garcia Sagredo JM, Vallcorba I, Lopez Y, Sanchez-Hombre MD, Resino M, Ferro MT. Chromosome painting in biological dosimetry: assessment of the ability to score stable chromosome aberrations using different pairs of paint probes. *Environ Health Perspect* 1996; 104 Suppl 3:475-477.
- (276) Ramsey MJ, Moore DH, Briner JF, Lee DA, Olsen L, Senft JR et al. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting. *Mutat Res* 1995; 338(1-6):95-106.
- (277) Pinkel D, Straume T, Gray JW. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83(9):2934-2938.
- (278) Hagmar L, Brogger A, Hansteen IL, Heim S, Hogstedt B, Knudsen L et al. Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res* 1994; 54(11):2919-2922.
- (279) Bonassi S, Abbondandolo A, Camurri L, Dal PL, De FM, Degrossi F et al. Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet Cytogenet* 1995; 79(2):133-135.

- (280) van den Engh G, Sachs R, Trask BJ. Estimating genomic distance from DNA sequence location in cell nuclei by a random walk model. *Science* 1992; 257(5075):1410-1412.
- (281) Cremer T, Cremer M. Chromosome territories. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(3):a003889.
- (282) Cremer T, Cremer C. Rise, fall and resurrection of chromosome territories: a historical perspective. Part I. The rise of chromosome territories. *Eur J Histochem* 2006; 50(3):161-176.
- (283) Ledbetter DH, Martin CL. Cryptic telomere imbalance: a 15-year update. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2007; 145C(4):327-334.
- (284) Sfeir AJ, Shay JW, Wright WE. Fine-tuning the chromosome ends: the last base of human telomeres. *Cell Cycle* 2005; 4(11):1467-1470.
- (285) Gilson E, Londono-Vallejo A. Telomere length profiles in humans: all ends are not equal. *Cell Cycle* 2007; 6(20):2486-2494.
- (286) Rowley JD. Molecular cytogenetics: Rosetta stone for understanding cancer—twenty-ninth G. H. A. Clowes memorial award lecture. *Cancer Res* 1990; 50(13):3816-3825.
- (287) de KA, van Kessel AG, Grosveld G, Bartram CR, Hagemmeijer A, Bootsma D et al. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature* 1982; 300(5894):765-767.
- (288) Albano F, Anelli L, Zagaria A, Coccaro N, Casieri P, Rossi AR et al. Non random distribution of genomic features in breakpoint regions involved in chronic myeloid leukemia cases with variant t(9;22) or additional chromosomal rearrangements. *Mol Cancer* 2010; 9:120.
- (289) Gisselsson D. Tumour morphology—interplay between chromosome aberrations and founder cell differentiation. *Histol Histopathol* 2002; 17(4):1207-1212.
- (290) Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; 258(5083):818-821.
- (291) du MS, Kallioniemi OP, Lichter P, Piper J, Benedetti PA, Carothers AD et al. Hardware and software requirements for quantitative analysis of comparative genomic hybridization. *Cytometry* 1995; 19(1):4-9.
- (292) Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet* 1998; 20(2):207-211.
- (293) Albertson DG, Collins C, McCormick F, Gray JW. Chromosome aberrations in solid tumors. *Nat Genet* 2003; 34(4):369-376.
- (294) de Vries BB, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LE, Janssen IM et al. Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet* 2005; 77(4):606-616.
- (295) Ballif BC, Sulpizio SG, Lloyd RM, Minier SL, Theisen A, Bejjani BA et al. The clinical utility of enhanced subtelomeric coverage in array CGH. *Am J Med Genet A* 2007; 143A(16):1850-1857.
- (296) Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat Protoc* 2007; 2(5):1084-1104.
- (297) Evans HJ, Neary GJ, Williamson FS. The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Part II. Chromosome damage: the production of micronuclei. *Int J Radiat Biol* 1959; 1:216-229.

- (298) Boller K, Schmid W. [Chemical mutagenesis in mammals. The Chinese hamster bone marrow as an *in vivo* test system. Hematological findings after treatment with trenimon]. *Humangenetik* 1970; 11(1):35-54.
- (299) Heddle JA. A rapid *in vivo* test for chromosomal damage. *Mutat Res* 1973; 18(2):187-190.
- (300) Countryman PI, Heddle JA. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res* 1976; 41(2-3):321-332.
- (301) Fenech M, Morley A. Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobios* 1985; 43(172-173):233-246.
- (302) Streffer C, Muller WU, Kryscio A, Bocker W. Micronuclei-biological indicator for retrospective dosimetry after exposure to ionizing radiation. *Mutat Res* 1998; 404(1-2):101-105.
- (303) Shibamoto Y, Streffer C, Fuhrmann C, Budach V. Tumor radiosensitivity prediction by the cytokinesis-block micronucleus assay. *Radiat Res* 1991; 128(3):293-300.
- (304) Hoffelder DR, Luo L, Burke NA, Watkins SC, Gollin SM, Saunders WS. Resolution of anaphase bridges in cancer cells. *Chromosoma* 2004; 112(8):389-397.
- (305) Shimizu N, Itoh N, Utiyama H, Wahl GM. Selective entrapment of extrachromosomally amplified DNA by nuclear budding and micronucleation during S phase. *J Cell Biol* 1998; 140(6):1307-1320.
- (306) Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a «cytome» assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. *Mutat Res* 2006; 600(1-2):58-66.
- (307) Albertini RJ. Developing sustainable studies on environmental health. *Mutat Res* 2001; 480-481:317-31.:317-331.
- (308) Bonassi S, Neri M, Puntoni R. Validation of biomarkers as early predictors of disease. *Mutat Res* 2001; 480-481:349-58.:349-358.
- (309) Lope V, Pollan M, Fernandez M, de LA, Gonzalez MJ, Sanz JC et al. Cytogenetic status in newborns and their parents in Madrid: the BioMadrid study. *Environ Mol Mutagen* 2010; 51(4):267-277.
- (310) Thierens H, Vral A, Morthier R, Aousalah B, De Ridder L. Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus centromere assay. *Mutagenesis* 2000; 15(3):245-249.
- (311) Fenech M. Important variables that influence base-line micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes-a biomarker for DNA damage in human populations. *Mutat Res* 1998; 404(1-2):155-165.
- (312) Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 2007; 28(3):625-631.
- (313) Schunck C, Johannes T, Varga D, Lorch T, Plesch A. New developments in automated cytogenetic imaging: unattended scoring of dicentric chromosomes, micronuclei, single cell gel electrophoresis, and fluorescence signals. *Cytogenet Genome Res* 2004; 104(1-4):383-389.
- (314) Ortiz de SC, Santos A, Vallcorba I, Garcia-Sagredo JM, del PF. Automated FISH spot counting in interphase nuclei: statistical validation and data correction. *Cytometry* 1998; 31(2):93-99.

- (315) McCabe LL, McCabe ER. Complexity in genetic diseases: how patients inform the science by ignoring the dogma. *Am J Med Genet A* 2006; 140(2):160-161.
- (316) Dipple KM, Phelan JK, McCabe ER. Consequences of complexity within biological networks: robustness and health, or vulnerability and disease. *Mol Genet Metab* 2001; 74(1-2):45-50.
- (317) Engel E. A new genetic concept: uniparental disomy and its potential effect, isodisomy. *Am J Med Genet* 1980; 6(2):137-143.
- (318) Ledbetter DH, Engel E. Uniparental disomy in humans: development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis. *Hum Mol Genet* 1995; 4 Spec No:1757-1764.
- (319) Nicholls RD, Knoll JH, Butler MG, Karam S, Lalande M. Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in nondeletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 1989; 342(6247):281-285.
- (320) Henry I, Bonaiti-Pellie C, Chehensse V, Beldjord C, Schwartz C, Utermann G et al. Uniparental paternal disomy in a genetic cancer-predisposing syndrome. *Nature* 1991; 351(6328):665-667.
- (321) Haig D. Genomic imprinting and kinship: how good is the evidence? *Annu Rev Genet* 2004; 38:553-585.
- (322) Waddington CH. *Organisers and Genes*. Cambridge: Cambridge University Press; 1940.
- (323) Lyon MF. Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome. *Am J Hum Genet* 1962; 14:135-148.
- (324) Avner P, Heard E. X-chromosome inactivation: counting, choice and initiation. *Nat Rev Genet* 2001; 2:59-67.
- (325) Sasaki H, Matsui Y. Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nat Rev Genet* 2008; 9:129-140.
- (326) Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet* 2010; 8:286-298.
- (327) Beckmann JS, Estivill X, Antonarakis SE. Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability. *Nat Rev Genet* 2007; 8(8):639-646.
- (328) Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, Listewnik ML, Donahoe PK, Qi Y et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet* 2004; 36(9):949-951.
- (329) Sebat J, Lakshmi B, Troge J, Alexander J, Young J, Lundin P et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science* 2004; 305(5683):525-528.
- (330) Bailey JA, Gu Z, Clark RA, Reinert K, Samonte RV, Schwartz S et al. Recent segmental duplications in the human genome. *Science* 2002; 297(5583):1003-1007.
- (331) Stranger BE, Forrest MS, Dunning M, Ingle CE, Beazley C, Thorne N et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science* 2007; 315(5813):848-853.
- (332) Shevell M, Ashwal S, Donley D, Flint J, Gingold M, Hirtz D et al. Practice parameter: evaluation of the child with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology* 2003; 60(3):367-380.
- (333) Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975; 98(3):503-517.

- (334) Kere J. Genetics of complex disorders. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 396(1):143-146.
- (335) Kruglyak L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat Genet* 1999; 22:139-144.
- (336) Hindorff LA, Junkins HA, Hall PN, Metha JP, Manolio TA. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. 2010.
- (337) Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009; 461(7265):747-753.
- (338) Lupski JR, Reid JG, Gonzaga-Jauregui C, Rio DD, Chen DC, Nazareth L et al. Whole-genome sequencing in a patient with Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *N Engl J Med* 2010; 362(13):1181-1191.
- (339) Roach JC, Glusman G, Smit AF, Huff CD, Hubley R, Shannon PT et al. Analysis of genetic inheritance in a family quartet by whole-genome sequencing. *Science* 2010; 328(5978):636-639.
- (340) van BH, Nislow C, Blencowe BJ, Hughes TR. Most «dark matter» transcripts are associated with known genes. *PLoS Biol* 2010; 8(5):e1000371.
- (341) Katsanis N, Ansley SJ, Badano JL, Eichers ER, Lewis RA, Hoskins BE et al. Triallelic inheritance in Bardet-Biedl syndrome, a Mendelian recessive disorder. *Science* 2001; 293(5538):2256-2259.
- (342) Morel BA. *Traité des Dégénérescences*. Paris: J.B. Bailliere; 1857.
- (343) Fleischer B. Über myotonische Dystrophie mit Katarakt: eine hereditäre, familiäre Degeneration. *Archiv Ophthalmol* 1918; 96:91-133.
- (344) Howeler CJ, Busch HFM, Geraedts JPM, Niermeijer MF, Staal A. Anticipation in myotonic dystrophy: fact or fiction? *Brain* 1989; 112:779-797.
- (345) Brook JD, McCurrach ME, Harley HG, Buckler AJ, Church D, Aburatani H et al. Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member. *Cell* 1992; 68:799-808.
- (346) Pembrey ME, Winter RM, Davies KE. A premutation that generates a defect at crossing over explains the inheritance of fragile X mental retardation. *Am J Med Genet* 1985; 21(4):709-717.
- (347) Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW et al. Recurrent fusion of *TMPRSS2* and *ETS* transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005; 310(5748):644-648.
- (348) Edwards PA. Fusion genes and chromosome translocations in the common epithelial cancers. *J Pathol* 2010; 220(2):244-254.
- (349) Knudson AG. Antioncogenes and human cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90(23):10914-10921.
- (350) Santarpia L, Nicoloso M, Calin GA. MicroRNAs: a complex regulatory network drives the acquisition of malignant cell phenotype. *Endocr Relat Cancer* 2010; 17(1):F51-F75.
- (351) Mattison J, Kool J, Uren AG, de RJ, Wessels L, Jonkers J et al. Novel candidate cancer genes identified by a large-scale cross-species comparative oncogenomics approach. *Cancer Res* 2010; 70(3):883-895.
- (352) Roukos DH. Systems medicine: a real approach for future personalized oncology? *Pharmacogenomics* 2010; 11(3):283-287.
- (353) Nichols WW. Significance of various type chromosome aberrations for man. *Environ Health Perspect* 1973; 6:179-183.

- (354) Norppa H, Bonassi S, Hansteen IL, Hagmar L, Stromberg U, Rossner P et al. Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk. *Mutat Res* 2006; 600(1-2):37-45.
- (355) Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 2007; 28(3):625-631.
- (356) Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *International Programme on Chemical Safety. Mutat Res* 2000; 463(2):111-172.
- (357) Bonassi S, Au WW. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat Res* 2002; 511(1):73-86.
- (358) Taioli E, Sram RJ, Binkova B, Kalina I, Popov TA, Garte S et al. Biomarkers of exposure to carcinogenic PAHs and their relationship with environmental factors. *Mutat Res* 2007; 620(1-2):16-21.
- (359) Hagmar L, Stromberg U, Bonassi S, Hansteen IL, Knudsen LE, Lindholm C et al. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts. *Cancer Res* 2004; 64(6):2258-2263.
- (360) Hagmar L, Bonassi S, Stromberg U, Brogger A, Knudsen LE, Norppa H et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res* 1998; 58(18):4117-4121.
- (361) Danna K, Nathans D. Specific cleavage of simian virus 40 DNA by restriction endonuclease of *Hemophilus influenzae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971; 68(12):2913-2917.
- (362) Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986; 51 Pt 1:263-273.
- (363) Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; 245(4922):1073-1080.
- (364) Beaudet AL. 1998 ASHG presidential address. Making genomic medicine a reality. *Am J Hum Genet* 1999; 64(1):1-13.
- (365) Zhernakova A, Elbers CC, Ferwerda B, Romanos J, Trynka G, Dubois PC et al. Evolutionary and functional analysis of celiac risk loci reveals SH2B3 as a protective factor against bacterial infection. *Am J Hum Genet* 2010; 86(6):970-977.
- (366) Murray RF, Jr. 5. Genetic health: a dangerous, probably erroneous, and perhaps meaningless concept. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1979; 15(2): 71-80.
- (367) Bradley J, Johnson D, Pober B. Lecture notes: Medical Genetics. 3rd ed. Maiden, USA: Blackwell Publishing; 2006.
- (368) Fraser FC. 2000 ASHG Award for Excellence in Education. Resetting our educational sights: unconstructing the public's dreams and nightmares of the genetic revolution. *Am J Hum Genet* 2001; 68(4):828-830.
- (369) The International HapMap Project. *Nature* 2003; 426(6968):789-796.
- (370) Firth HV, Richards SM, Bevan AP, Clayton S, Corpas M, Rajan D et al. DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. *Am J Hum Genet* 2009; 84(4):524-533.

- (371) Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsunoda T et al. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet* 2002; 32(4):650-654.
- (372) Kruglyak L, Lander ES. Complete multipoint sib-pair analysis of qualitative and quantitative traits. *Am J Hum Genet* 1995; 57(2):439-454.
- (373) McCarthy MI. Exploring the unknown: assumptions about allelic architecture and strategies for susceptibility variant discovery. *Genome Med* 2009; 1(7):66.
- (374) Ropers HH. New perspectives for de elucidation of genetic disorders. *Am J Hum Genet* 2007; 81:199-207.
- (375) Dickson SP, Wang K, Krantz I, Hakonarson H, Goldstein DB. Rare variants create synthetic genome-wide associations. *PLoS Biol* 2010; 8(1):e1000294.
- (376) Craddock N, Hurles ME, Cardin N, Pearson RD, Plagnol V, Robson S et al. Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2010; 464(7289):713-720.
- (377) Need AC, Goldstein DB. Next generation disparities in human genomics: concerns and remedies. *Trends Genet* 2009; 25(11):489-494.
- (378) Clarke AJ. Musings on genome medicine: the value of family history. *Genome Med* 2009; 1(8):75.
- (379) Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997; 350(9076):485-487.
- (380) de MJ, Goossens V, Bhattacharya S, Castilla JA, Ferraretti AP, Korsak V et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2010; 25(8):1851-1862.
- (381) Economic costs associated with mental retardation, cerebral palsy, hearing loss, and vision impairment—United States, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53(3):57-59.
- (382) Leroi AM. The future of neo-eugenics. Now that many people approve the elimination of certain genetically defective fetuses, is society closer to screening all fetuses for all known mutations? *EMBO Rep* 2006; 7(12):1184-1187.
- (383) Cocchi G, Gualdi S, Bower C, Halliday J, Jonsson B, Myreliid A et al. International trends of Down syndrome 1993-2004: Births in relation to maternal age and terminations of pregnancies. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2010; 88(6):474-479.
- (384) Sandel MJ. *Contra la perfección*. Barcelona: Marbot Ediciones; 2007.
- (385) Prüs-Ostüm A, Corvalán C. Preventing disease through healthy environments. Towards an estimate of the environmental burden of disease. Geneva: World Health Organization; 2006.
- (386) Brand A, Brand H, Schulte in den BT. The impact of genetics and genomics on public health. *Eur J Hum Genet* 2008; 16(1):5-13.
- (387) Baca-García E, Vaquero-Lorenzo C, Perez-Rodriguez MM, Gratacos M, Bayes M, Santiago-Mozos R et al. Nucleotide variation in central nervous system genes among male suicide attempters. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2010; 153B(1):208-213.
- (388) Marshall E. Biotechnology. Lawsuit challenges legal basis for patenting human genes. *Science* 2009; 324(5930):1000-1001.

- (389) Klein RD. Legal developments and practical implications of gene patenting on targeted drug discovery and development. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 87(6):633-635.
- (390) Soini S, Ayme S, Matthijs G. Patenting and licensing in genetic testing: ethical, legal, and social issues. *Eur J Hum Genet* 2008; 16 Suppl 1:S10-S50.
- (391) Sebastiani P, Solovieff N, Puca A, Hartley SW, Melista E, Andersen S et al. Genetic Signatures of Exceptional Longevity in Humans. *Science* 2010.
- (392) Bowles BB, Marteau TM. The future of genetic counselling: an international perspective. *Nat Genet* 1999; 22(2):133-137.
- (393) OMICS in personalized medicine. European Commission DG Research. 2010, Brussels.
- (394) McCaughan F, Dear PH. Single-molecule genomics. *J Pathol* 2010; 220(2):297-306.
- (395) Chilibeck G, Lock M, Sehdev M. Postgenomics, uncertain futures, and the familiarization of susceptibility genes. *Soc Sci Med* 2010.
- (396) Evans JP. Recreational genomics; what's in it for you? *Genet Med* 2008; 10(10):709-710.
- (397) Ng PC, Murray SS, Levy S, Venter JC. An agenda for personalized medicine. *Nature* 2009; 461(7265):724-726.
- (398) Sankar P, Cho MK, Wolpe PR, Schairer C. What is in a cause? Exploring the relationship between genetic cause and felt stigma. *Genet Med* 2006; 8(1):33-42.
- (399) Chan S. Humanity 2.0? Enhancement, evolution and the possible futures of humanity. *EMBO Rep* 2008; 9 Suppl 1:S70-S74.
- (400) Sanchez CA, Morales A, Barreiro E. Estudio genético de veinte casos de síndrome de Down (mongolismo). *Rev Clin Esp* 1964; 93(1):23-26.
- (401) Forteza Bover G. Atlas of Blood Cytology: Cytomorphology, cytochemistry and cytogenetics. New York: Grune and Straton; 1964.

**DISCURSO DE CONTESTACIÓN  
DEL  
EXCMO. SR. D. ANTONIO CAMPOS MUÑOZ**



Excmo. Sr. Presidente,  
Excmos. Señores Académicos  
Señoras y Señores,

De acuerdo con la tradición y con las normas tomo la palabra en este acto para dar respuesta en nombre de la Real Academia Nacional de Medicina al discurso de Ingreso que, para acceder al sillón número 29 de esta Corporación, acaba de pronunciar en esta tribuna el Profesor Don José Miguel García Sagredo. Agradezco al Presidente de nuestra Real Academia y a la junta directiva el honor que me hace al haberme designado para dar voz a la Academia y cumplir con un deber tan grato.

Es norma de estos discursos exponer los meritos del Académico que ingresa y glosar su discurso en el contexto de la ciencia médica y en el de la vida académica. No seré yo quien rompa esta tradición centenaria ni quien ose cuestionarla. En primer lugar porque he tenido siempre por norma ser fiel a la historia y a las tradiciones académicas que constituyen, sin duda, un depósito y un poso cultural que, enriquecido, debemos transmitir a las generaciones futuras y por cuya degeneración o deterioro podrán siempre pedirnos cuenta. En segundo lugar porque la tradición establecida me permite, al considerar la biografía y el discurso del Prof. García Sagredo, evocar algunos aspectos de su persona y de la ciencia que cultiva, la genética, a los que personal y afectivamente me siento muy vinculado.

¿Quien es José Miguel García Sagredo? ¿Cual ha sido la trayectoria que lo ha traído hasta esta Casa? ¿Que ha querido decirnos con el discurso que acaba de pronunciar?

Sería, desde luego, una impertinencia por mi parte relatarles aquí, uno tras otro, todos y cada uno de los méritos y circunstan-

cias biográficas que han jalonado su carrera y que lo han hecho merecedor del sillón que acaba de ocupar y de la medalla número 29 que acaba de recibir. Por eso en este acto, ante los Señores académicos, ante su familia y ante sus amigos, voy a permitirme dibujar cuatro estampas de la vida de José Miguel García Sagredo; unas estampas que he ido configurando con las aportaciones de distintas personas, con las vivencias que tengo, por similitud generacional, de la época en la que nos ha tocado vivir y por el conocimiento y el interés que asimismo tengo por la disciplina que el Prof. García Sagredo ha cultivado.

**Primera estampa:** Años sesenta del siglo XX. José Miguel García Sagredo es un joven prudente que en la Facultad de Medicina de Madrid y como becario del Patronato de igualdad de oportunidades (PIO) ha iniciado sus estudios de medicina. Conoce muy bien los sinsabores y las alegrías del mundo rural de Castilla pues nacido en un pequeño pueblo de la provincia de Burgos, Pedrosa de Muñó, ha seguido a su padre, y a su familia, en los distintos destinos que este ha tenido como maestro nacional, benemérita profesión a cuya desaparición hay que atribuir a mi juicio muchos de los males de identidad y de cohesión que aquejan a nuestra Patria. Es en esos sucesivos pueblos de las tierras del Duero, que con tanta emoción y serena belleza ha cantado Antonio Machado —San Juan del Monte, Castronuevo de Esgueva o Peñafiel— en los que nuestro protagonista realiza sus estudios primarios y el bachillerato como alumno libre u oficial, según existiese o no un centro autorizado en su lugar de residencia. Es en ese mundo y en ese ámbito en el que José Miguel García Sagredo va a tener contacto por primera vez con la medicina, una medicina rural en la que el médico, y otro tanto habría que decir del maestro, ejercen su gran labor benefactora y en la que, mas que en ninguna otra circunstancia, se hace realidad la definición de Don Pedro Laín Entralgo cuando afirma que el medico es un posibilitador de esperanzas. Estoy convencido que esa influencia rural inclinó su vocación hacia la medicina dejando a un lado su otra gran vocación: las ciencias exactas.

Ahora en la gran ciudad, entre tantos jóvenes que como el estudian en la Facultad de Medicina, pero que no han vivido esa experiencia telúrica de una medicina pegada a la tierra, asiste en anfiteatros repletos de alumnos a las lecciones de algunos de los grandes maestros de la Complutense Don Francisco Orts Llorca , Don Fernando de Castro, Don Jorge Tamarit, Don Antonio Galle-

go, Don Benigno Lorenzo Velázquez y acude, en su etapa clínica, a las consultas y salas hospitalarias de las cátedras que dirigen Don Manuel Bermejillo y Don Vicente Gilsanz con los que trabaja como alumno interno.

Superar con disciplina personal y voluntad el tránsito del mundo rural al mundo de la medicina urbana y hospitalaria y hacerlo además con éxito en la sociedad cambiante de los años sesenta, constituye, a mi juicio, el sencillo pero valioso mensaje que José Miguel García Sagredo nos regala desde esta primera estampa de su vida académica.

**Segunda estampa:** Estamos en los primeros años setenta. En Madrid dos instituciones constituyen, en ese momento, sendos faros que iluminan a la medicina española. Se trata de la Fundación Jiménez Díaz y de la Clínica Puerta de Hierro a cuyo impulso y desarrollo contribuyeron muy significativamente algunos miembros de nuestra Real Academia hoy aquí presentes.

Es precisamente en esos años cuando en la Fundación Jiménez Díaz un cardiólogo Andrés Sánchez Cascos ha comenzado a desarrollar una aventura inédita en la medicina española: la creación de un servicio de Genética en un hospital para aplicar los vertiginosos avances de dicha disciplina a la práctica clínica con todo lo que ello supone para el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades. A esa aventura se incorpora en 1971 José Miguel García Sagredo que al amparo de Sánchez Cascos, su maestro, un hombre que no ha recibido el reconocimiento que sin duda merece, adquiere una excelente formación, pionera en España, en la que se aúna, por vez primera en nuestro País, un riguroso diagnóstico clínico con una documentada información genética obtenida en el laboratorio, un laboratorio que al efecto se ha ido poco a poco configurando en las instalaciones de la Fundación. De la importancia que la genética va a ir adquiriendo en la medicina que se practica en la Fundación Jiménez Díaz son testimonio las sesiones clínicas y anatomoclínicas que se celebran en la institución y que periódicamente publica el boletín de la misma, un boletín que por aquel entonces llegaba a la inmensa mayoría de los médicos españoles. En esos años José Miguel García Sagredo además de formarse como genetista clínico comienza a investigar en ese ámbito y fruto de ello son sus primeras publicaciones en revistas internacionales sobre los factores genéticos presentes en las cardiopatías congénitas.

Decisión para apostar por una especialidad emergente, la gené-

tica, alejada de los campos más seguros y promisorios en los que inicialmente cifraba su futuro y, sobre todo, visión y ambición para construir, casi desde cero, un nuevo modo de hacer medicina, esas son, a mi juicio, las actitudes, el mensaje, que nuestro nuevo académico nos transmite en esta segunda estampa de su vida.

**Tercera estampa:** Años ochenta y noventa del pasado siglo. Algunos hospitales españoles han entendido el mensaje de la Fundación Jiménez Díaz y han incorporado la genética clínica a sus servicios médicos asistenciales. El Dr. García Sagredo es en esta estampa un profesional maduro, excelentemente formado en su campo, que ejerce su actividad profesional en uno de esos hospitales, el hospital Ramón y Cajal de Madrid vinculado universitariamente a la Universidad de Alcalá. En dicho hospital practica e impulsa lo que ha aprendido en la Fundación y por eso y durante años desarrolla una genética profundamente volcada hacia la clínica en áreas como la dismorfología, la esterilidad, el diagnóstico prenatal y el cáncer familiar en las que realiza aportaciones muy significativas que publica en algunas de las revistas internacionales más relevantes de su especialidad como son el Journal of Medical Genetics, Clinical Genetics, Human Genetics o Cancer Genetics and Cytogenetics.

Pero lejos de ejercer repetitivamente la genética médica que ha aprendido y de la que ya es un consumado profesional, García Sagredo da un paso más y participa en el desarrollo tres grandes líneas de investigación vinculadas a su especialidad: la aplicación de las tecnologías de la información a la automatización y el diagnóstico de la citogenética, el desarrollo de técnicas combinadas moleculares y microscópicas al servicio de la identificación y el diagnóstico de las enfermedades hereditarias y la existencia e incidencia de las mutaciones ambientales en la sociedad de nuestros días. No puedo extenderme pormenorizadamente en sus investigaciones en estos campos pero baste decir que en su haber esta, en relación con la primera línea, el diseño de nuevos software para el reconocimiento de cromátidas hermanas; en relación con la segunda el desarrollo pionero en España de las técnicas de FISH (hibridación in situ con fluorescencia) y CGH (Hibridación genómica comparada) para identificar secuencias de ADN en núcleos en interfase y el estudio genético de los tumores sólidos y finalmente, en relación con la tercera, su importante contribución al estudio de los efectos mutagénicos de los campos electromagnéticos utilizando como metodología el «painting cromosómico» y los «micronúcleos» para determinar

las traslocaciones y los biomarcadores de salud . Para el desarrollo de estos trabajos el Prof. García Sagredo ha contado con fondos procedentes de proyectos europeos, del Fondo de investigaciones sanitarias y de la Red de Centros de enfermedades raras del Instituto Carlos III así como con la colaboración del Departamento de Bioingeniería de la Escuela de Ingenieros de Telecomunicación de Madrid, el Centro Nacional de Epidemiología o el Medical Research Council del Reino Unido. Sus trabajos se han publicado igualmente en las revistas científicas más significativas de su área como por ejemplo *Clinical Genetics*, *American Journal of Human Genetics* o *Mutation Research*.

Voluntad para ejercer la ciencia que cultiva a la altura de su tiempo como diría Don Pedro Laín, capacidad para orientar su investigación hacia un mejor diagnóstico y, por último, intuición e innovación para saber asociar su disciplina con el futuro —con las nuevas tecnologías y con la influencia de un medioambiente nuevo y cambiante—, son, a mi parecer, las cualidades más importantes que José Miguel García Sagredo nos transmite desde esta tercera estampa de su vida académica

**Cuarta y última estampa:** Primeros años del siglo XXI. José Miguel García Sagredo es ahora un hombre, un científico, un médico, que desarrolla, además de una labor clínica e investigadora relevante, una labor social de primera magnitud, un tipo de labor que Lee Iacocca denomina labor de contribución o siembra.

José Miguel García Sagredo alcanza, en efecto en esta etapa, un papel muy influyente en la docencia y la proyección social de la genética. En la Universidad de Alcalá dicta anualmente el curso de Genética Médica en la Licenciatura de Medicina y los cursos de postgrado en genética Clínica. En la Escuela Nacional de Sanidad y numerosas universidades y centros españoles, europeos y americanos nuestro protagonista es con frecuencia requerido como conferenciante y profesor experto en su materia para participar y dictar cursos en programas de especialización y doctorado. Barcelona, Bilbao, Alicante, Atenas, París, Río de Janeiro, o Valparaíso son algunos de los lugares en los que García Sagredo ha ejercido y ejerce su magisterio. Creo que es importante destacar que desde hace diez años es profesor regular ordinario en el curso de postgrado europeo de citogenética que se imparte en la Universidad de Montpellier.

Su contribución e influencia en la genética se extiende asimismo al ámbito profesional y al ámbito social. En el primer caso su voz se

oye con fuerza en la genética europea y española como miembro activo que ha sido y es de la ECA, la European Cytogenetics Association, organización internacional que preside desde el año 2009. En España ha sido miembro fundador de la Sociedad española de su especialidad científica y participa activamente en la divulgación y difusión de la genética y del impacto que esta tiene en la sociedad de nuestros días. Libros, como el publicado por la Universidad Nacional de Educación a distancia, artículos como los que publica con cierta regularidad en periódicos de difusión nacional y numerosas intervenciones en conferencias y mesas redondas constituyen ejemplos de su labor contributiva y divulgadora en este campo.

Voluntad de proyección de la ciencia que cultiva para desarrollarla profesionalmente y para insertarla con rigor en el debate social y capacidad de liderazgo para el ejercicio de dicha tarea, son, a mi parecer, las imágenes que se desprenden de esta cuarta y última estampa de la vida académica y profesional de José Miguel García Sagredo.

Señores académicos, queridos amigos, a través de estas cuatro estampas he querido presentar ante nuestra Academia al hombre que hoy ingresa en ella. Quizá esta no sea una presentación al uso pero creo sinceramente que es la que corresponde a nuestro nuevo compañero en esta casa. En las estampas no existe casi nunca un solo personaje. Algunos están mas apagados precisamente para resaltar el protagonismo de aquel en el que nos fijamos. Eso sucede con las estampas que hoy les he ido presentando. En ellas aparece, casi desde el principio, la imagen de sus padres, las de Isabel y sus hijos, la familia por el formada, o la de sus maestros y colaboradores. Ellos han contribuido, sin ningún género de duda, a la singular perspectiva que hoy ofrece la figura de José Miguel García Sagredo. Pero a la inversa, si hubiésemos fijado el foco sobre ellos sería la imagen de José Miguel la que diese forma y perspectiva a las distintas figuras existentes en cada estampa. Todos ellos con su contribución ingresan hoy también de algún modo en esta Real Academia de Medicina lo que constituye un motivo de orgullo y satisfacción para todos nosotros como, sin duda, lo es también para todos ellos.

En un discurso de recepción es preceptivo realizar algunos comentarios sobre el discurso de ingreso que dicta el nuevo académico. En el caso que nos ocupa es esta una labor muy ardua al tratarse de un discurso extenso cuyo texto abarca de forma exhaustiva

todos los aspectos de la genética y al que no es posible añadir ni quitar una sola palabra. Estoy seguro que, por la extraordinaria documentación que contiene y el rigor con el que ha sido escrito, el discurso que ha aportado a nuestra Corporación el Prof. García Sagredo va a constituir un texto de consulta y de referencia obligada en el ámbito de la Genética humana, de la genética médica y de la genética clínica.

Tres son, aún con las limitaciones que acabo de señalar, las reflexiones generales que quiero hacer sobre el discurso. En primer lugar sobre el significado último que tienen los saberes genéticos en la definición de la naturaleza humana. En segundo lugar sobre la incidencia que, en el saber y en el ejercicio médico, tiene una naturaleza humana sustentada en la genética y, en tercer y último lugar, sobre el significado que los saberes genéticos tienen para el conjunto de los seres humanos sanos y enfermos que vivimos en sociedad.

Comenzaré la primera reflexión partiendo de una pregunta ¿Que es el ser humano? Kant afirma en la introducción a sus «Lecciones de Lógica» que todas las cuestiones de la filosofía pueden reducirse a esta elemental cuestión. Sobre la naturaleza humana nuestro conocimiento ha sido muy limitado hasta hace apenas un siglo. En los últimos cien años hemos asistido sin embargo a un aluvión de datos sobre los genes, sobre el cerebro y sobre la evolución que nos permiten afirmar con toda rotundidad, como afirma el filósofo Jesús Mosterin, que la naturaleza humana radica en el genoma. No debe olvidarse que la palabra *natura* o *naturaleza* procede de la forma *natus* del verbo *nasci*, y significa todo aquello que se tiene ya al nacer o que está determinado al nacer.

El genoma de cada ser humano, sustrato de su naturaleza, incardina y aúna en su configuración y su estructura tres grandes realidades: una realidad filogenética, una realidad específica, esto es propia de nuestra especie, y una realidad personal, propia de cada uno de nosotros.

En el primer caso el genoma recapitula en cada ser humano la historia filogenética de nuestro linaje. Somos, por tanto, lo que fuimos y todos los rasgos comunes de los seres vivos del planeta tierra, heredados de nuestro último ancestro común, constituyen y forman parte de nuestra naturaleza humana.

Sydney Brenner, reciente Premio Nobel de Medicina británico, ha escrito, por otra parte, que los seres vivos son las únicas entidades del universo que llevan dentro de sí mismas una descripción de lo que son, una descripción que está constituida por una estructu-

ra —el genoma— que no solo describe la naturaleza de su portador sino que proporciona las instrucciones para generarlo y para permitirle vivir, reproducirse y desplegar sus capacidades esto es para configurarlo como una realidad específica, como una especie concreta, sobre la faz de la tierra.

Pero el ser humano tiene en su genoma también el sustrato de su propia individualidad biológica y aunque tenemos un novecientos noventa y nueve sobre mil de patrimonio genético común existe un uno por mil que nos es propio y que constituye por tanto el sustrato de nuestra propia realidad como individuos únicos y singulares en el mundo.

La naturaleza humana, en cada ser humano concreto, no es, por supuesto, solo genoma aunque este constituye el sustrato fundamental de la misma. El ser humano es biología pero también es biografía y esta se configura a través de la cultura o lo que es lo mismo de la información que se transmite entre cerebros por aprendizaje social.

El pensador Joseph Muñoz Redón ha escrito, en una hermosa definición, que la cultura consiste en inventarse la vida cada día y en la necesidad apremiante de calentar la frialdad del mundo con colores, herramientas, caricias o sueños. Por la naturaleza, por el genoma, nuestra realidad filogenética, específica e individual nos hace por ejemplo tener pelo y que este sea de un color determinado. Pero por cultura, al inventar nuestras vidas cada día, nos lo cortamos, nos lo peinamos o nos lo teñimos.

El discurso que José Miguel García Sagredo acaba de dictar esta tarde constituye un excelente retrato hiperrealista de los sillares genéticos que conforman nuestra naturaleza humana, pero su aportación no es solo eso, lo que ya sería de por sí hartamente relevante. García Sagredo nos dice más, mucho más, y en su discurso nos advierte que la solidez imperturbable de esos sillares tal y como creíamos haberlos entendido hasta ahora empieza a cuartearse. Y nos relata entre otras cosas el cambio de algunos dogmas de la genética y el inmenso universo que la epigenética y la epigenómica, lo que actualmente se llama el epigenoma, comienza a abrir ante nuestros ojos. Cambios en la expresión génica al margen de la secuencia de ADN empiezan a relacionarse con la simple metilación de la molécula o la modificación de las histonas y lo mismo ocurre a la hora de explicar la existencia de un mecanismo de herencia biológica al margen de la secuencia de ADN. Si la genética es el abecedario, la epigenética sería, en palabras de Esteller, la ortografía esto es el modo del que disponemos para poder transcribirlo en escritura.

¿Será la epigenética la base de un nuevo lamarkismo, más sólida y científicamente asentado, que explique de algún modo la herencia de rasgos adquiridos? ¿Será la epigenética, aparte de la mutación, la que otorgue al medioambiente un papel tan relevante a la hora de definir la naturaleza genómica del ser humano como el que tiene a la hora de definir su naturaleza cultural? ¿Y que puede ocurrir en el futuro con la naturaleza humana si incorporamos a nuestro patrimonio genético genoma artificial creado en el laboratorio? A mi juicio dar respuesta a estos interrogantes es al primer gran reto al que nos invita en su excelente discurso nuestro nuevo académico.

La incidencia que una naturaleza humana sustentada en la genética tiene sobre el saber y el ejercicio médico constituye el eje de la segunda reflexión general que ha suscitado en mí la lectura del texto del discurso que acabamos de escuchar. Don Pedro Laín en uno de sus libros menos conocidos «La Medicina Actual» afirma que los cuatro rasgos que caracterizan la medicina de nuestro tiempo son la tecnificación instrumental, la colectivización de la asistencia, la personalización del enfermo y la prevención y promoción de la salud. Y añade además que personalizar la enfermedad consiste en concebir el cuerpo del ser humano enfermo como parte integral y constitutiva de la persona y por tanto de su naturaleza.

Si la enfermedad personalizada asienta en la naturaleza humana y esta, como hemos comentado con anterioridad, lo hace filogenéticamente, específicamente e individualmente sobre el genoma no es posible concebir una medicina a la altura de nuestro tiempo que no sea propiamente genómica.

En su discurso José Miguel García Sagredo nos muestra pormenorizadamente como la genética humana se hace médica y clínica al impregnar desde la raíz a la hoja cada uno de los rasgos de la medicina actual —la personalización, la colectivización, la tecnificación y la prevención— a los que hace referencia Don Pedro Laín Entralgo.

Las técnicas citogenéticas y de genética molecular fundamentales en nuestros días para alcanzar el diagnóstico de numerosas patologías, los estudios de epidemiología genética que contribuyen a esclarecer la etiología y difusión de las enfermedades a lo largo y lo ancho del mundo, la farmacogenética que, por el contrario, afecta a la individualidad del ser humano en su esperanza terapéutica y las posibilidades de ver los nuevos horizontes que representan la genética preventiva y predictiva son, a mi parecer, claros ejemplos de cómo la genética ha logrado incardinarse en el paradigma que conforma la medicina de nuestro tiempo.

¿Está presente sin embargo la genética humana, médica y clínica en los saberes y quehaceres del médico de nuestros días? ¿Forma parte de su paradigma? ¿Se dan las condiciones y las circunstancias para que esto ocurra?

Resulta evidente que las respuestas a estos interrogantes no son satisfactorias. A incardinar la genética en la textura del conocimiento y el ejercicio médico es, a mi parecer, al segundo gran reto al que nos invita en su discurso nuestro nuevo académico.

Mi tercera y última reflexión esta relacionada con el significado que los saberes genéticos tienen para los seres humanos sanos y enfermos que convivimos en sociedad. Se ha dicho que la ciencia proporciona al ser humano cinco bienes fundamentales: bienestar, poder, dignidad, libertad y capacidad para imaginar nuevos futuros. José Miguel García Sagredo nos ha mostrado en su discurso que los saberes genéticos pueden proporcionar al ser humano y a la sociedad en la que dicho ser se encuentra inmerso todo ese conjunto de posibilidades, desde la identificación personal, incluida la de personajes históricos, hasta la identificación étnica y evolutiva de colectivos y pueblos, desde un diagnóstico preciso sustentado en catálogos y bases de datos genéticos adecuadamente interpretados mediante aplicaciones bioinformáticas hasta una terapéutica con genes, con fármacos modulados por ellos o con plataformas ómicas derivadas de la acción de los mismos, desde el clásico consejo genético hasta la nueva eugenesia que García Sagredo ha descrito en su discurso.

Sin embargo frente a los cinco bienes no es muy difícil entrever también algunos males: frente al soñar, el maquinario; frente a la libertad y a la dignidad, la anulación de la conciencia y la esclavitud en nombre de las leyes científicas, frente al poder que da la ciencia para elegir un destino compartido, el poder que da para elegir un destino selectivo, frente a la búsqueda del bienestar general, la búsqueda de un bienestar propio y singular. La discriminación sustentada en la información genética, el uso indebido del ADN almacenado en los biobancos, la genética de consumo difundida y comercializada a través de Internet o el «genotipado de boutique» son algunos ejemplos de los males y dificultades que plantea la relación entre la genética y la sociedad.

Ante la imagen Jánica, bifronte que la genética parece mostrar en nuestra sociedad ¿qué actitud debemos adoptar los seres humanos que formamos parte de ella? A responder esta pregunta nos invita en su discurso, con su pormenorizada descripción de bondades y riesgos, nuestro nuevo compañero de Corporación. A mi juicio

este es el tercer gran reto que nos propone en su discurso no sin antes advertirnos que la genética es solo el mensajero y en ningún caso la mano que envía el mensaje.

Sr. Presidente, Sres. Académicos Sras. y Sres.

El primer sillón de Genética de nuestra Real Academia acaba de ser ocupado por un hombre, por un médico, por un científico que ha vivido a lo largo de su trayectoria biográfica el nacimiento y el desarrollo de la genética en la medicina española desde los primeros setenta del pasado siglo hasta nuestros días. Se ha dicho en alguna ocasión que a veces los nuevos conocimientos que conforman la nueva medicina llegan tarde a nuestra institución. Pero esto a mi parecer no es cierto. A la Academia hay que llegar cuando la biografía de un nuevo académico, con independencia de la edad, está cargada de una experiencia ricamente vivida en el ejercicio de un determinado saber y esto es lo que ha ocurrido en el caso que nos ocupa. A la Academia llega en esta ocasión una nueva disciplina —la genética humana, médica y clínica—, desarrollada en la medicina hospitalaria española en los últimos cuarenta años, y lo hace de la mano de un médico, un científico, un genetista, cuya biografía, personal y profesional, se ha ido desarrollando en paralelo a como lo ha hecho la propia genética, una disciplina a la que con su práctica clínica, su investigación y su contribución docente y social ha logrado claramente impulsar en la medicina hospitalaria española.

Wisława Szymborska, la poeta polaca que hace unos años recibió el Premio Nobel de Literatura, escribió, a propósito de unos pájaros migratorios que agonizaban sobre la nieve, estas hermosas palabras: «en esta primavera los pájaros han venido antes de tiempo. Regójate razón, el instinto a veces también se equivoca». No se si la Genética llega tarde o temprano a nuestra Real Academia, podemos discutirlo, pero si quiero que sepas, querido José Miguel, que, en cualquier caso, con tu llegada a esta Academia, con la llegada de la Genética, ni la razón ni el instinto se han equivocado.

He dicho.

Muchas gracias.

