



Genómica, farmacogenómica y medicina del siglo XXI

E. Coto

Laboratorio de Genética Molecular. Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

Hacer pronósticos sobre qué líneas de investigación van a tener mayor impacto en la medicina del próximo futuro puede ser un ejercicio arriesgado. Sin embargo, la mayoría de los expertos pronostican cambios tan radicales que la medicina de dentro de 20-30 años podría parecerse poco a la que conocemos actualmente. Esta no es una idea excesivamente original si consideramos que la medicina, como toda actividad cultural, progresa mediante la transmisión de lo adquirido. Cada generación construye sobre lo que se aprende de la anterior, y el efecto multiplicador de este modelo conlleva cambios sustanciales en períodos de tiempo cada vez más cortos, razón por la que en dos o tres décadas podremos asistir a transformaciones mayores que las acumuladas en todos los siglos precedentes. También están de acuerdo los expertos en que una de las grandes revoluciones biomédicas vendrá de la investigación de nuestro genoma. El desciframiento de la secuencia de nuestro genoma, lo que alguien llamó «el libro de instrucciones para construir (o reparar) un ser humano», representará la entrada en una era marcada por el predominio de la biología. La cultura del siglo XXI estará dominada por la biología molecular y esto no es más que la consecuencia de un proceso que comenzó con el descubrimiento del material hereditario y la estructura del ADN, y continuó con el hallazgo del código genético y el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante (ingeniería genética). Visto desde una perspectiva médica, si lo que perseguimos es vencer las enfermedades, esta fusión entre la biología, la química y la física que constituye la genética molecular nos ha llevado a un lugar que algunos consideran el principio del fin, pero que más bien sería el fin del principio. Descubrir la secuencia de nuestros aproximadamente cien mil genes no será más que el fin del primer capítulo de un libro muy grande. Si es difícil prever lo que nos traerá el segundo capítulo, más aún lo será adivinar el final.

Correspondencia: Dr. Eliecer Coto García
Hospital Central de Asturias
33006 Oviedo

GENES HUMANOS Y GENES MURINOS EN LA ERA DE LA GENÓMICA

No parece haber muchas dudas del papel que van a jugar en el próximo futuro la posibilidad de realizar diagnósticos presintomáticos (facilitados por el acceso rápido y barato a métodos de secuenciación del ADN) y las terapias génicas para muchas enfermedades. Sin embargo, el mayor impacto sobre la medicina podría venir de la colaboración entre la genética molecular y la farmacología, lo que se ha llamado farmacogenómica. ¿Qué es la farmacogenómica y cómo podría influir en la práctica médica?

Muchos de los fármacos empleados en la actualidad se descubrieron mediante un proceso de cribado, en el que primero se aisló la sustancia y después se probaron sus efectos sobre animales. Uno de los objetivos de la investigación genética será identificar qué proteínas de nuestro organismo están implicadas en el desarrollo de una enfermedad. Los farmacólogos deberán entonces diseñar moléculas para inhibir la función de esas proteínas o para estimular su producción. Puesto que las proteínas están codificadas por genes, hablar aquí de una proteína es lo mismo que hacerlo del gen que la codifica. La secuencia de aminoácidos de una proteína determina su estructura tridimensional, y esta nos da pistas muy fiables de su función. Así, en el mismo artículo que en 1996 publicaba la secuencia del segundo gen de la poliquistosis renal del adulto (situado en el cromosoma 4) se describían la secuencia de aminoácidos de la proteína (policistina 2, PKD2) y su estructura tridimensional (proteína con seis dominios transmembranales), y se avanzaba su función más probable: por analogía con otras proteínas conocidas podría ser un canal para el calcio¹. Nadie había visto esta proteína en la membrana, ni el flujo de calcio a su través. Ni que decir tiene que estos trabajos finalizan señalando las posibilidades terapéuticas del descubrimiento: en el caso de la poliquistosis renal podrían ensayarse agentes que regulen el trasiego de calcio para tratar la enfermedad.

El genoma humano es una secuencia de unos 4.000 millones de nucleótidos (adenina, citosina, ti-

mina, guanina), repartidos en unos 100 mil genes distribuidos en 23 pares de cromosomas. Para cuando se halla completado la primera fase del proyecto genoma humano (el primer «borrador» se ha anunciado para el año 2000, y la versión definitiva para antes del 2003) tendremos la secuencia de los 100 mil genes, información que de ser imprimida ocuparía el equivalente a 20 guías de teléfonos. Sin embargo, desconoceremos la función de más del 70% de estos genes, cómo se regula su expresión, cómo interaccionan entre sí para configurar una célula sana, cómo intervienen en el desarrollo de las enfermedades,... Ante esta perspectiva, los biólogos moleculares no podemos sino sentirnos como Isaac Newton, quien se veía a sí mismo como un niño paseando por la playa, entreteniéndose en lanzar guijarros al agua, en tanto que «el inmenso océano de la verdad estaba por descubrir ante mí».

La era postgenómica deberá enfrentarse a retos más complejos que los de la «simple» descripción de la secuencia de nuestro genoma. Una de las consecuencias más inmediatas de la secuenciación de un gen humano es la «fabricación» de un modelo animal, casi siempre el ratón, en el que la función del gen está modificada, en general anulada (ratones «knock-out»). No olvidemos que la inmensa mayoría de los genes humanos tienen un homólogo murino y que las secuencias de nucleótidos y las funciones de las proteínas son más o menos parecidas entre las dos especies (a algunos biólogos moleculares nos gusta decir que la historia de nuestra ciencia comenzó cuando Charles Darwin publicó su obra sobre el origen de las especies). Por utilizar un ejemplo reciente, tras la descripción de la secuencia del receptor de tipo 2 de la angiotensina se creó un ratón que carecía de copias funcionales de este gen, por lo que no expresaba este receptor. Así descubrimos su efecto hipotensor, en contraposición al efecto hipertensor del receptor de tipo 1². La manipulación farmacológica de esta proteína se convierte así en una línea de investigación para el tratamiento de las patologías en las que juega un papel fundamental el sistema de la angiotensina, como muchas enfermedades renales o cardiovasculares.

VARIACIÓN GENÉTICA Y NUEVAS DIANAS TERAPÉUTICAS

Por motivos obvios, la información que nos dan los modelos animales no podría ser obtenida en el hombre. Sin embargo, hay una aproximación experimental para la búsqueda de nuevas vías en el tratamiento de las enfermedades que sí contempla el empleo de pacientes.

La mayoría de las enfermedades tienen componentes ambientales y biológicos (es decir, genéticos). Estos actúan sobre el origen de la enfermedad (riesgo de desarrollarla) o, una vez iniciada, modulando su progresión. Hay enfermedades con un origen fundamentalmente ambiental. Así, la enfermedad coronaria es desencadenada por factores como el tabaco o la dieta. Sin embargo, también reconocemos que hay diferencias biológicas interindividuales, de forma que en el mismo ambiente algunas personas sufren un infarto más precozmente que otras. En otros casos, como el del Alzheimer, las personas nacerían con una predisposición a desarrollar la enfermedad y el ambiente sería un simple modulador del riesgo de que se manifieste más o menos pronto o progrese más o menos lentamente (el caso del Alzheimer es representativo de una problemática que se nos «viene encima», ya que el principal factor de riesgo es ambiental pero inevitable: el envejecimiento. Por tanto, el problema sólo puede ser planteado en términos de cuáles son los factores biológico-genéticos que hacen que algunas personas no desarrollen la enfermedad o lo hagan a edad más tardía que otras).

La secuencia a la que nos referimos al hablar del genoma humano es un patrón de referencia. En realidad tendríamos que hablar de tantas secuencias como seres humanos existen, han existido o existirán. No hay dos personas con la misma secuencia (salvo en el caso de los gemelos monocigóticos). Por término medio, uno de cada mil nucleótidos es variable, por lo que en el conjunto del genoma habría más de 4 millones de posiciones polimórficas. Por ejemplo, en el gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) hay varias posiciones polimórficas³. Para un polimorfismo, las personas pueden ser de tres tipos: heterocigotos y los dos tipos de homocigotos. En el caso de la ECA, para el polimorfismo adenina (A)/timina (T) en la posición -240 (región reguladora de la expresión) los tres genotipos son AA, AT y TT. Recordemos que esta característica genética la heredamos de nuestros padres y quedó establecida en el momento en que fuimos fecundados. Esta variación genética no se traduce en diferencias en la secuencia de aminoácidos de la proteína, pero afecta a la expresión del gen y, por tanto, a la cantidad de la enzima que las células sintetizan⁴. En otros casos, como el de la apolipoproteína E y su famoso polimorfismo $\epsilon 2$ - $\epsilon 3$ - $\epsilon 4$, sí se produce un cambio en la secuencia de aminoácidos, y esto afecta a la función de la proteína. Así, la variante $\epsilon 4$ tiene mayor afinidad por el receptor de las lipoproteínas y, en una dieta alta en grasas los portadores tienen niveles de colesterol en la sangre más altos que los homocigotos 33⁵.

Los casos de la ECA y APOE podrían generalizarse a todo el genoma, ya que la mayoría de los genes tiene al menos un polimorfismo que conlleva diferencias en la cantidad (expresión) o en la función de la proteína. Si queremos investigar el papel de esta variación en la progresión de una enfermedad en la que el gen (la proteína que codifica) esté implicado, procederemos a analizar enfermos. Si un genotipo es más frecuente en los enfermos que en los controles sanos, significa que esta variación genética (y por tanto este gen) influye sobre el origen de la enfermedad. Una conclusión inmediata es que cualquier fármaco (conocido o por descubrir) que actúe sobre la proteína codificada por el gen debería ser ensayado como posible tratamiento. Por ejemplo, puesto que el sistema de la angiotensina actúa a nivel cerebral y podría participar en determinadas enfermedades neurológicas, tiene sentido analizar el papel de la variación en el gen de la ECA en el desarrollo del Alzheimer⁶. Al menos dos estudios recientes sobre tres poblaciones diferentes sugieren que las personas con un genotipo de expresión baja son más frecuentes entre los enfermos^{7,8}. Aunque podemos estar aún lejos de hallarle aplicación terapéutica a estos resultados, parece lógico iniciar líneas de investigación para definir si la «manipulación» farmacológica del sistema de la angiotensina podría contribuir al tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

VARIACIÓN GENÉTICA Y PROGRESIÓN DE LAS ENFERMEDADES

Aunque la investigación biomédica persigue evitar la aparición de las enfermedades o conseguir la curación de los pacientes, estos objetivos no serán alcanzables a corto plazo. Como indiqué anteriormente, en la mayoría de las enfermedades existen grados de afectación o de progresión, que pueden ser debidos a factores ambientales o a diferencias biológicas (genéticas) entre los pacientes. Consideremos los casos de la poliquistosis renal o la nefropatía diabética. En los dos tenemos pacientes que progresan rápida o lentamente hacia la insuficiencia renal. Si estas diferencias en la progresión tienen una base genética, descubrirla abriría nuevas expectativas en el tratamiento de las enfermedades. Si no podemos curar, tratemos al paciente para que la enfermedad progrese lo más lentamente posible. Para descubrir qué genes controlan la progresión (genes modificadores) analizamos la variación genética en los progresores rápidos y lentos. Así, varios estudios han concluido que el genotipo de producción alta de ECA es más frecuente entre los poliquísticos con

una progresión más rápida hacia la insuficiencia renal (55 vs 65 años)^{9,10}. El tratamiento de los pacientes poliquísticos con inhibidores de la ECA u otras moléculas que reduzcan la actividad del sistema de la angiotensina podría contribuir a ralentizar la progresión de su enfermedad. Esto sería extensible al caso de la nefropatía diabética y la glomerulonefritis, en las que los pacientes con genotipo de producción alta progresan más rápidamente hacia la insuficiencia renal^{11,12}. Sin embargo, no debemos olvidar que la probabilidad de tener éxito en el tratamiento de las enfermedades progresivas será tanto mayor cuanto más precozmente sea aplicado.

Para descubrir qué variación genética contribuye a modular la progresión de cualquier enfermedad necesitaremos un gran número de pacientes correctamente clasificados. Esta tarea (la clasificación clínica) puede llegar a ser más difícil y laboriosa que el análisis genético, que se irá simplificando a medida que la tecnología progresa. Puesto que hemos llegado a un punto en el que fenotipar es más difícil que genotipar, es fundamental el papel de los investigadores clínicos en el desarrollo de la farmacogenómica y, en general, en cualquier aplicación médica de la genética molecular¹³.

VARIOS GENES, UNA ENFERMEDAD

Quienes nos dedicamos a investigar el papel de la variación genética en el origen o en la progresión de las enfermedades somos con frecuencia tachados de reduccionistas. Se nos recuerda que, dejando de lado el papel del ambiente, la mayoría de las enfermedades son genéticamente complejas, no dependen de un solo gen. Esto es cierto, y ni siquiera la mente más reduccionista dejará de reconocerlo.

En muchas ocasiones la visión simplista de la genética no parte de los propios científicos, sino que obedece al gusto de los medios de comunicación por la simplificación sensacionalista. Los ratones transgénicos que sobreexpresan el gen NMDA, que codifica el receptor del neurotransmisor N-metil-D-aspartato, tienen mejor memoria que sus hermanos no manipulados¹⁴. Esta mejora en la capacidad de aprendizaje de los ratones fue presentada por algunas revistas divulgativas como el descubrimiento del gen de la inteligencia. El genotipo de baja producción de ECA es más frecuente entre la élite de los deportistas de resistencia (ciclistas y maratonianos), algo lógico si consideramos el papel del sistema de la angiotensina en el control de la fisiología cardiovascular¹⁵⁻¹⁷. Aunque sea más probable que un cam-

peón del mundo contrarreloj tenga un genotipo de baja producción de ECA, sólo los medios divulgativos pueden presentar estos resultados como el hallazgo del «gen del deportista».

Sin embargo, no olvidemos que por muchos que sean los genes que actúen sobre el origen o la progresión de una enfermedad, esta no deja de tener un componente genético. Muchos estudios están descubriendo que la variación en un gen puede no aparecer por sí sola asociada a una enfermedad, pero cuando se analiza en combinación con la variación en otro gen podemos ver un efecto sinérgico. Así, el genotipo de alta producción de ECA confiere un riesgo bajo de desarrollar infarto de miocardio precoz (por debajo de los 50 años) entre nuestros fumadores. La variación en el gen del receptor tipo 1 de la angiotensina tampoco aparece asociada al desarrollo precoz de esta enfermedad. Pero cuando se analizan los dos genes en conjunto aparece una combinación que incrementaría más de 5 veces el riesgo de desarrollar infarto de miocardio precoz (tengamos en cuenta que el sistema de la angiotensina lo componen varias proteínas que interactúan para producir una respuesta biológica)^{18,19}. Una conclusión inmediata de estos estudios es que debería ensayarse la combinación de dos o más fármacos dirigidos a bloquear ambos componentes del sistema (como inhibidores de la ECA y antagonistas del receptor) para prevenir el desarrollo de la enfermedad coronaria.

Otro ejemplo clarificador es la interacción entre la variación en los genes de la ECA y de la óxido nítrico sintetasa endotelial (ecNOS). Un polimorfismo en la región que regula la expresión de este gen (-786 T/C) ha sido asociado al desarrollo de espasmo coronario entre los japoneses²⁰. El alelo C determina menor expresión de la ecNOS y, por tanto, menor producción de óxido nítrico (un agente vasodilatador). Los homocigotos CC parecen ser más susceptibles al desarrollo de espasmo coronario, y entre nuestros fumadores este genotipo conferiría un riesgo moderado de desarrollar infarto de miocardio precoz. Sin embargo, tener este genotipo y el de alta producción de ECA incrementaría unas 4 veces el riesgo de sufrirlo. La combinación de fármacos que inhiban la actividad de la ECA y estimulen la actividad de la ecNOS podría tener así más valor terapéutico que el empleo de cualquiera de ellos por separado.

VARIACIÓN GENÉTICA Y RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS

Hasta ahora me he referido a una de las líneas de actuación de la genómica, consistente en la bús-

queda de nuevas dianas terapéuticas a partir del descubrimiento del papel de un gen en el origen o la progresión de una enfermedad. Existe otra línea de trabajo consistente en investigar cómo la variación en un gen puede influir en la respuesta al tratamiento con un fármaco determinado. La farmacogenómica debe nombre al hecho de que los pacientes responden de formas diferentes a los tratamientos, y esta variación en la respuesta clínica a un fármaco tiene su origen tanto en factores ambientales como genéticos.

Quizá uno de los ejemplos más ilustrativos venga de la nefrología. Son varios los estudios que han demostrado que la respuesta a los inhibidores de la ECA es mucho peor entre aquellos pacientes con un genotipo de alta producción de la enzima. Así, tras ser tratados con captopril, los pacientes con nefropatía diabética y un genotipo de producción baja de ECA presentan una menor proteinuria que los pacientes con el genotipo de producción alta²¹. Otro ejemplo lo proporciona un estudio reciente que ha descrito cómo el polimorfismo alanina/cisteína en la posición 1166 del gen del receptor tipo 1 de la angiotensina, condicionaría la respuesta al losartán²².

Los estudios de la relación entre la variación genética y las respuestas a fármacos van a generalizarse en el futuro inmediato. Los primeros resultados obtenidos sugieren que el genotipado de los pacientes podría ser una práctica habitual para decidir qué tratamiento farmacológico aplicar o qué dosis administrar. La elaboración de un carnet o perfil genético de cada paciente para valorar cómo ha de ser tratado podría ser una práctica más cercana de lo que pensamos. Sin embargo, la complejidad de los ensayos clínicos requeridos y el volumen de la información necesaria para demostrar el papel de la variación genética en las respuestas a los tratamientos, dan de nuevo al clínico un papel central en el desarrollo de la farmacogenómica.

EL PROTAGONISMO DE LOS CLÍNICOS

La genética molecular es una ciencia con vocación transformadora (si es que alguna rama del conocimiento humano no la tiene). En un artículo reciente sobre los retos de la hipertensión arterial en el siglo XXI, J. Díez y C. Laviades sugerían que la explotación de la información derivada del estudio de nuestro genoma es el principal reto científico al que nos enfrentamos²³. Como señalé al principio, la medicina de dentro de 20 años se parecerá poco a la que conocemos actualmente. Sin embargo, esto no quiere decir que vaya a dejar de estar en manos de los médicos. La rapidez con la que los hallazgos

de cualquier ciencia básica (como la genética molecular) penetren en la medicina dependerá en último término del grado de implicación de los clínicos en la investigación y en la aplicación de los resultados. La investigación sobre el genoma humano nos permitirá disponer de unas herramientas de un poder nunca conocido. Quizá esto no sea más que una consecuencia del natural progreso hacia una interpretación de los fenómenos biológicos en términos físico-químicos, algo que nos debería permitir superar el empirismo que ha caracterizado a la medicina. Sin embargo, no olvidemos que aunque se puede determinar la secuencia del genoma del homo sapiens a partir del ADN de un solo individuo de la especie, la aplicación de todo este conocimiento al tratamiento de las enfermedades va a requerir grandes esfuerzos en el campo de la investigación clínica.

BIBLIOGRAFÍA

- Mochizuki y cols.: PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 272: 1339-1342, 1996.
- Ichiki y cols.: Effects on blood pressure and exploratory behaviour of mice lacking angiotensin II type-2 receptor. *Nature* 377: 748-750, 1995.
- Tiret L y cols.: Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 51: 197-205, 1992.
- Villard E y cols.: Identification of new polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene, and study of their relationship to plasma ACE levels by two-QTL segregation-linkage analysis. *Am J Hum Genet* 58: 1268-1278, 1996.
- Tikkanen MJ y cols.: Apolipoprotein E homozygosity predisposes to serum cholesterol elevation during high fat diet. *Arteriosclerosis* 10: 285-288, 1990.
- Phillips MI: Functions of angiotensin in the central nervous. *Annu Rev Physiol* 49: 413-435, 1987.
- Kehoe PG y cols.: Variation in DCP1, encoding ACE, is associated with susceptibility to Alzheimer's disease. *Nat Genet* 21: 71-72, 1999.
- Álvarez R y cols.: Angiotensin converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase DNA polymorphism and late onset Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 67: 733-736, 1999.
- Baboolal K y cols.: Association of the angiotensin I converting enzyme gene deletion polymorphism with early onset of ESRF in PKD1 adult polycystic kidney disease. *Kidney Int* 52: 607-613, 1997.
- Pérez-Oller L y cols.: Influence of ACE gene polymorphism in the progression of renal failure in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 34: 273-278, 1999.
- Yoshida H y cols.: Role of deletion polymorphism of the angiotensin converting-enzyme gene in the progression and therapeutic responsiveness of IgA nephropathy. *J Clin Invest* 96: 2162-2169, 1995.
- Dudley CRK y cols.: UK prospective diabetes study XV. Relationship of renin angiotensin system gene polymorphism with microalbuminuria in NIDDM. *Kidney Int* 48: 1907-1912, 1995.
- Martínez Lage JM: Significado de la variación genética apolipoproteína E en la enfermedad de Alzheimer. *Med Clin* 113: 449-451, 1999.
- Tang YP y cols.: Genetic enhancement of learning and memory mice. *Nature* 401: 63-69, 1999.
- Montgomery H y cols.: Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. *Lancet* 353: 541-545, 1999.
- Taylor RR y cols.: Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. *J Appl Physiol* 87: 1035-1037, 1999.
- Álvarez R y cols.: Genetic variation at the RAS ad athletic performance. *Eur J Appl Physiol* (en prensa).
- Tiret L y cols.: Synergistic effects of the angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type I receptor gene polymorphism on risk of myocardial infarction. *Lancet* 344: 910-913, 1994.
- Álvarez R y cols.: Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphisms: association with early coronary disease. *Cardiovasc Res* 40: 375-379, 1998.
- Nakayama M y cols.: T-786>C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm. *Circulation* 99: 2864-2870, 1999.
- Parving HH y cols.: Effect of deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene on progression of diabetic nephropathy during inhibition of angiotensin converting enzyme: observational follow up study. *Brit Med J* 313: 591-593, 1996.
- Miller JA y cols.: Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism predicts response to losartan and angiotensin II. *Kidney Int* 56: 2173-2180, 1999.
- Díez J, Laviades C: Los retos de la hipertensión arterial en el siglo XXI. *Nefrología* 19: 487-491, 1999.