



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Evolución del papel de la Genética en Medicina: del estudio de la herencia a la genómica personalizada.

Evolution of the role of Genetics in Medicine: from the study of inheritance to personalized genomics.

Autora: D^a. María del Pilar Velarde Náñez

Directora: Dra. Matxalen Llosa Blas

Santander, junio 2019

Índice

- I. Resumen**
- II. Introducción**
- III. Los comienzos de la Genética y su aplicación en medicina**
 - III.1- El trabajo de Gregor Mendel**
 - III.2- Errores congénitos del metabolismo**
 - III.3- Infiriendo la estructura física de los genes**
 - III.4- Genética de poblaciones**
 - III.5- Genética bioquímica y molecular**
 - III.6- Estudiando el ADN**
 - III.7- Evolución de la citogenética**
- IV. La revolución del ADN recombinante y las técnicas de manipulación del genoma**
 - IV.1- Tecnología del ADN recombinante**
 - IV.1.1- Enzimas de restricción y ligación**
 - IV.1.2- Reacción en Cadena de la Polimerasa**
 - IV.1.3- Creación e introducción del ADN recombinante en las células**
 - IV.2- Edición genómica y CRISPR/Cas9**
 - IV.3- Aplicaciones en medicina**
 - IV.3.1- Terapia génica**
- V. La genómica y la post-genómica**
 - V.1- Técnicas de secuenciación de ADN**
 - V.2- El Proyecto Genoma Humano**
 - V.3- Principales aplicaciones en medicina**
 - V.4- Variabilidad genética humana y medicina personalizada**
- VI. Presente de la Genética en medicina**
 - VI.1- Aplicaciones en el diagnóstico**
 - VI.2- Aplicaciones en el tratamiento**
 - VI.3- Aplicaciones en investigación**
 - VI.4- Medicina preventiva**
- VII. Debate ético**
 - VII.1- Manipulación del genoma embrionario**
 - VII.2- Diagnóstico precoz y prevención de enfermedades**
 - VII.3- El problema de los Kits genéticos directos al consumidor y la interpretación de la información genética**
 - VII.4- Privacidad genética**
 - VII.5- Desigualdad social e infrarrepresentación en los estudios**
 - VII.6- Patentes de genes**
- VIII. El futuro de la Genética en medicina**
 - VIII.1- Predecir la predisposición a tener una condición genética desde el nacimiento**
 - VIII.2- Modificar el genoma de individuos o especies**

VIII.3- Detectar cualquier variación genética en cualquier célula

VIII.4- Medicina personalizada

VIII.5- Investigación

IX. Conclusiones

X. Bibliografía

XI. Agradecimientos

I. Resumen

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión histórica y una reflexión sobre la evolución de la Genética y su aplicación en Medicina; desde sus comienzos hace poco más de un siglo, cuando su uso se centraba sobretodo en el estudio de la herencia y el análisis de cariotipos, hasta la actualidad, en la que disponemos de nuevas tecnologías que no solo permiten conocer la información recogida en los genes, sino también modificarla. Además, se pretende deliberar sobre las profundas implicaciones sociales, éticas y legales de estas nuevas tecnologías y sugerir el posible futuro de esta disciplina.

El comienzo de la Genética como disciplina científica se remonta a finales del siglo XIX, con el trabajo de Gregor Mendel, y poco después la investigación de Archibald Garrod sobre genética bioquímica demostró su utilidad en medicina. Desde entonces la investigación y el desarrollo de nuevas técnicas la han transformado en disciplina con gran impacto en diversas ramas de la práctica médica.

Su empleo para predecir la herencia de enfermedades y detectar marcadores genéticos creó campos con múltiples aplicaciones en medicina como la citogenética o la Genética de poblaciones. Más adelante revoluciones tecnológicas como el ADN recombinante y las técnicas de secuenciación marcaron un cambio de paradigma, propiciando iniciativas de impacto mundial como el Proyecto Genoma Humano, y permitiendo el desarrollo de innovaciones médicas como la terapia génica o la medicina personalizada.

Actualmente la Genética es una herramienta esencial en algunas especialidades médicas, interviniendo en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, facilitando la investigación y ayudando en campos como la medicina preventiva. También tiene un importante impacto social y es sometida frecuentemente a estudio para asegurar la aplicación ética de sus descubrimientos.

Es muy posible que, en el futuro, la Genética acabe convirtiéndose en una herramienta indispensable en el ejercicio de la medicina.

Palabras clave: *genética, medicina, historia, evolución.*

Summary

The beginning of genetics as a scientific discipline dates back to the late nineteenth century, with the work of Gregor Mendel, and shortly after that Archibald Garrod's research on biochemical genetics demonstrated its uses in medicine. Since then, research and development of new techniques have turned it into a very important branch of molecular biology.

Its use to predict the inheritance of diseases and detect genetic markers has created specialties with multiple applications in medicine such as cytogenetics or population genetics. Later technological advancements such as recombinant DNA and sequencing techniques caused a shift, driving initiatives with global repercussions like the Human

Genome Project and prompting the development of medical innovations such as gene therapy or personalized medicine.

Currently, genetics is an essential tool in some medical specialties, taking part in the diagnosis and treatment of diseases, facilitating research and helping in specialties such as preventive medicine. It also has an important social impact and is frequently studied to ensure its findings are used following ethical rules.

In the future, genetics might end up becoming an essential tool in medical practice.

Key words: *genetics, medicine, history, evolution.*

II. Introducción

La rápida evolución de la Genética en poco más de un siglo no solo la ha convertido en una rama muy importante de la ciencia, sino que también la ha transformado en una herramienta de gran utilidad en múltiples apartados de la asistencia médica. Los avances realizados han demostrado que este campo de la ciencia no atañe solo a especialistas en enfermedades raras o congénitas, sino que influye en un amplio abanico de competencias médicas incluyendo salud pública, investigación y medicina clínica.

A pesar del creciente uso de métodos genéticos de diagnóstico, la inclusión cada vez mayor de medicina personalizada y de precisión en la práctica clínica y el apoyo tanto de la Sociedad Europea de Genética Humana como de la Asociación Española de Genética Humana (que ha hecho múltiples intentos de incluirla en el catálogo de especialidades^{[5][6]}), España es el único país de la Unión Europea sin una especialidad de Genética Clínica^[7]. Además, la integración de la Genética en los programas de estudio de las facultades de medicina españolas es escasa.

En este trabajo, hago un recorrido por la historia de la Genética, explicando cómo ha influido en el desarrollo de la Medicina desde comienzos del siglo pasado hasta ahora, las aplicaciones de las diversas técnicas descubiertas, y el conocimiento que ha aportado a diversos campos de la práctica clínica. A continuación, comento algunos aspectos éticos y dificultades morales asociadas a al estudio y aplicación de la Genética a la Medicina. Finalmente, indico algunas posibilidades del futuro de esta disciplina.

III. Los comienzos de la Genética y su aplicación en medicina

III.1- El trabajo de Gregor Mendel

La Genética comenzó en el siglo XIX como una ciencia centrada en estudiar la herencia de características procedentes de los progenitores con el trabajo de Gregor Mendel, que realizó una serie de experimentos que aún hoy constituyen el paradigma del

análisis genético^[8]. Los hitos más relevantes de esta etapa de dicha especialidad están recogidos en la línea temporal representada en la **Figura 1**.

Mendel adoptó como método de estudio el análisis de poblaciones, en lugar de analizar individuos particulares, y sus principios de Herencia mendeliana siguen usándose para explicar los mecanismos básicos de transmisión de rasgos^[9].

Entre 1856 y 1865 estudió los patrones de herencia de ciertas características en plantas de guisante común (*Pisum sativum*) y observó que los caracteres se transmiten a través de unidades que se redistribuyen en cada generación (genes), de forma que el descendiente recibe un elemento de cada progenitor y, por tanto, debe tener un par de elementos como mínimo. Además, dedujo que los rasgos recesivos debían ser transmitidos de los progenitores originales a la primera generación, y de ésta a la segunda. También se dio cuenta de que siempre había una relación tres a uno entre los rasgos dominantes y los recesivos que aparecían en esta segunda generación, lo cual indicaba que los patrones de herencia se regían por normas estadísticas sencillas.

En base a esto, postuló las reglas de Herencia mendeliana, según las cuales los patrones de herencia pueden explicarse y mediante reglas y ratios estadísticos. Predijo que toda la descendencia de progenitores que difieren en una característica es igual, y al cruzar individuos de esa generación (por tanto con el mismo genotipo) los rasgos que parecen haber desaparecido resurgen. Más tarde se observó que esto no siempre es así, ya que los fenómenos de penetrancia, expresión fenotípica y ligamiento al sexo, entre otros, no lo cumplen, pero estos datos se descubrieron posteriormente^[9].

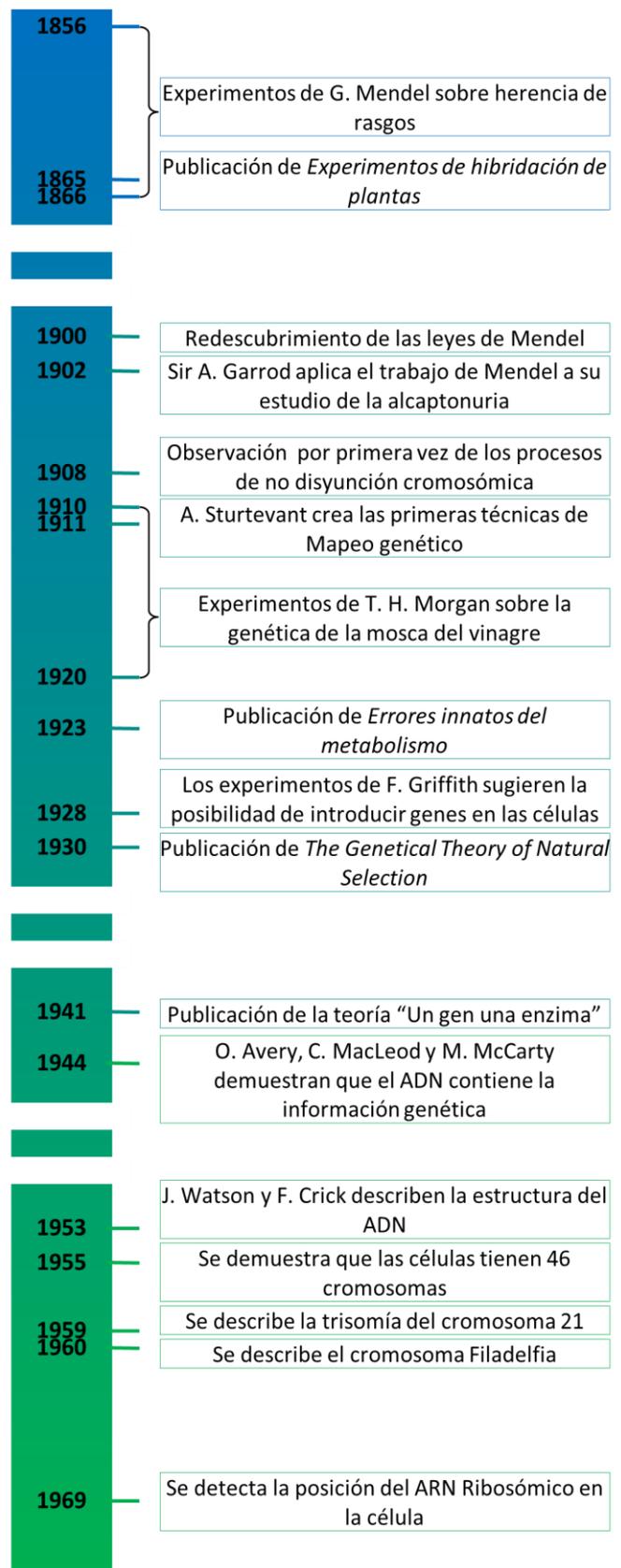


Figura 1. Los comienzos de la genética

Es particularmente destacable de sus experimentos la forma metódica que tuvo de comprobar sus hipótesis y la aplicación de modelos matemáticos para el estudio de herencia biológica, creando un sistema para desarrollar predicciones estadísticas sobre la herencia de características que influyó mucho en la biología en general^[9]. Las Leyes de Mendel pueden usarse para predecir cómo se transmitirán los genes de una generación a la siguiente, permitiendo determinar todas las combinaciones potenciales de descendientes de una pareja de genotipo conocido, o deducir el genotipo de una pareja mediante el estudio de sus descendientes. Si bien no todos los patrones de herencia coinciden con lo que describió Mendel, sus modelos permiten tener una base con la que comparar desviaciones para estudiarlas.

En 1866 dio dos lecturas sobre su trabajo y lo publicó con el título "*Versuche über Pflanzen-Hybriden*" (Experimentos de hibridación en plantas) en *Verhandlungen des Naturforschenden Vereins zu Brünn* (Boletín de la Sociedad de Ciencias Naturales de Brno), una revista científica poco conocida. Debido a esto pasó desapercibido, dándosele más importancia a otras teorías de la época que postulaban que las características en la descendencia son una mezcla de las de los progenitores^[9].

Su trabajo no fue redescubierto hasta principios del siglo XX, cuando los botánicos Hugo de Vries, Carl Correns y Erich von Tschermak lo encontraron casi simultáneamente y por separado. Los tres estaban llevando a cabo experimentos similares a los suyos sobre hibridación de plantas que les llevaron a los mismos resultados: la conclusión de que los rasgos heredados dependían de dos partículas de información provenientes de los padres que se transmitían a la descendencia. Después de esto, la comunidad científica comenzó a emplear los principios mendelianos en diversos modelos animales para tratar de determinar qué moléculas estaban involucradas en los procesos de transmisión de la herencia.

III.2- Errores congénitos del metabolismo

Poco después del redescubrimiento del trabajo de Mendel, en 1902, Sir Archibald Garrod aplicó sus principios al estudio de la alcaptonuria, una enfermedad metabólica cuya naturaleza congénita ya había señalado en 1899 y en la que, con ayuda del biólogo y genetista William Bateson, había observado cierta tendencia a aparecer más frecuentemente en hijos de matrimonios con relaciones de consanguinidad (primos hermanos). Garrod dedujo que la enfermedad seguía un patrón de factor recesivo como el descrito por Mendel, y comprendió que las unidades de transmisión descritas por el monje podrían estar implicadas en las enfermedades asociadas a procesos bioquímicos, a los que llamó Errores congénitos del metabolismo; entre ellas, algunas poco graves como el albinismo o la pentosuria, y otras más graves como la cistinuria o la porfiria^[10].

En su libro *Inborn Errors of Metabolism* (Errores innatos del metabolismo), Garrod explicó que los procesos bioquímicos en el hombre se alteran debido a defectos metabólicos que provocan la acumulación y eliminación por orina de sustancias químicas que han sido transformadas al alterarse la ruta, conclusión a la que había llegado mediante el análisis de las sustancias presentes en la orina de individuos con alcaptonuria. También recogió su observación de que estos cuadros se comportaban como si estuvieran provocados por un factor mendeliano recesivo^[10].

Su colaboración con Bateson, que había observado el carácter hereditario de la enfermedad, estableció por primera vez la idea de que la alteración de un gen heredable de forma mendeliana provocaba un cambio en una enzima, de forma que el paso metabólico mediado por esa enzima no puede llevarse a cabo y la ruta se bloquea, produciendo una incapacidad innata para realizar el proceso metabólico^[10]. Esto le llevó a la conclusión de que los errores genéticos asociados al cuadro detenían la cadena metabólica en un punto específico, causando la falta de una enzima concreta para cada enfermedad. Ambos investigadores procedieron a realizar el análisis genético de otras alteraciones del metabolismo (albinismo, cistinuria y pentosuria), descubriendo mecanismos similares de asociación entre bioquímica y genética.

Si bien su trabajo tampoco tuvo mucho impacto inmediatamente, más tarde serviría como fundamento para la rama de la Genética Bioquímica, que estudia la relación entre la bioquímica y la genética. Sus observaciones fueron el primer ejemplo de aplicación de la Genética a la medicina^[9] y cómo puede ayudar a estudiar enfermedades, implicando una relación directa entre los genes, las unidades hereditarias y los enzimas.

La alcaptonuria fue la primera enfermedad genética hereditaria descrita^[11] y el primer caso conocido de una alteración en un gen que producía una alteración en una ruta metabólica, pero con el tiempo se describieron otras enfermedades metabólicas asociadas a cambios genéticos, como el albinismo. Conocer la relación entre estas enfermedades y su genética permite comprender el mecanismo de enfermedad, determinar posibles tratamientos para ellas, y predecir cómo afectarán los patrones de herencia a los descendientes de los afectados.

III.3- Infiriendo la estructura física de los genes

En la década de 1910, los experimentos de Thomas Hunt Morgan y sus colaboradores de la Universidad de Columbia sobre la genética de las moscas del vinagre (*Drosophila melanogaster*) mostraron que los factores hereditarios se disponen de forma lineal en zonas concretas de los cromosomas. En base a esto se estableció el modelo mendeliano de la Genética clásica: los factores hereditarios o genes son la unidad básica de la herencia, tanto funcional como estructuralmente, y se encuentran lineal y ordenadamente dispuestos en los cromosomas, cercanos unos a otros.

Otra consecuencia de este descubrimiento fue la descripción del fenómeno de ligamiento genético: cuanto más cerca físicamente están los genes codificantes dentro de un cromosoma, menor frecuencia hay de sucesos de recombinación, y más tienden a heredarse con la misma combinación que había en los cromosomas de los progenitores). Esto influye en la herencia de rasgos, al determinar cuales se heredan en bloque, y cambia las probabilidades estadísticas de recombinación establecidas por la ley de segregación independiente de Mendel. En 1911 Alfred Sturtevant se basó en este fenómeno para determinar las distancias entre genes a partir de sus frecuencias de recombinación, lo cual permitió deducir no solo en qué cromosoma se halla un gen concreto, sino en qué región específica del cromosoma está.

Este proceso se conoce como Mapeo genético y consiste en el uso de marcadores moleculares para deducir la posición de un gen respecto a dicho marcador,

determinando el orden en que se coloca en la secuencia y rastreando indirectamente la transmisión de los genes a los que están ligados. Los marcadores son secuencias de nucleótidos polimórficas (ya sean genes o secuencias sin función concreta) cuya ubicación física en el cromosoma se conoce y cuya herencia, es decir de qué progenitor proviene, puede distinguirse claramente. Los mapas pueden ser genéticos, si definen la distancia entre genes con unidades de frecuencia recombinación (tienen la ventaja de que puede identificar la posición relativa de los genes en función a su efecto fenotípico), o físicos si la definen por número de nucleótidos entre genes, aunque esta segunda clase se desarrolló después.

En medicina, el Mapeo genético se ha usado clásicamente para determinar las causas genéticas de enfermedades hereditarias monogénicas (fibrosis quística, distrofia muscular de Duchenne). Más recientemente, este mapeo también se ha utilizado para definir genes y alelos de susceptibilidad en desórdenes multifactoriales, en los que intervienen varios genes (asma, enfermedades cardíacas, diabetes, cáncer, afecciones psiquiátricas).

En los cuadros de transmisión familiar, actualmente el mapa genético se crea aislando el ADN de muestras de sangre o tejido obtenidas de miembros afectados de la familia y estudiándolo en busca de patrones que se heredan con la enfermedad, y que por tanto se pueden usar como marcadores de esta. Esto permite el segundo uso de los mapas genéticos en medicina: determinar el patrón de herencia de un gen y predecir a qué individuos afectará.

Es importante tener en cuenta que los marcadores no identifican necesariamente al gen responsable de la enfermedad, sino que informan sobre su presencia y posición dentro del cromosoma. El marcador puede ser el gen que produce el cuadro, pero es más frecuente que sea simplemente una secuencia que está ligada al gen causante, y por eso aparece en todos los miembros de la familia afectados. Por ello, siempre hay cierto margen de error que se basa en la probabilidad de recombinación entre el marcador y el gen en cuestión.

El mapeo genético es también la técnica base de la estrategia de clonación posicional, que ha ayudado a identificar muchos genes asociados a enfermedades monogénicas (por ejemplo, la fibrosis quística), facilitando la creación de métodos de diagnóstico y tratamiento y la adquisición de nuevos conocimientos sobre la enfermedad.

III.4- Genética de poblaciones

La Genética lleva usando conceptos de estadística para analizar los resultados de sus experimentos desde su creación, cuando Gregor Mendel aplicó reglas matemáticas para explicar los resultados de sus experimentos. Pero, al principio, la comunidad científica no estaba muy segura de cómo aplicar los descubrimientos sobre la herencia de caracteres (según los cuales los rasgos de un individuo derivan de la herencia genética obtenida de los progenitores) a la teoría de evolución de Darwin (según la cual una especie va adquiriendo sus características con el tiempo).

Los descubrimientos sobre la naturaleza física de los genes durante la década de 1910 condujeron, entre otras cosas, a la creación de la Genética de poblaciones, una rama

de la Genética que se centra en estudiar y comparar la variación entre individuos aplicando conceptos de bioestadística a las leyes de Mendel para desarrollar modelos estadísticos que expliquen la asociación entre genética y evolución.

Su desarrollo consiguió crear una visión matemática de la distribución de alelos y genotipos en las poblaciones, y con el tiempo las aportaciones de científicos como Ronald Fisher o Sewall Wright permitieron que, en 1930, la aplicación de modelos basados en razonamientos estadísticos llevaran a la síntesis neodarwiniana moderna, según la cual las especies tienen tanto transmisión de características entre generaciones (Genética Mendeliana) como adquisición de rasgos dependiendo de su entorno (evolución por selección natural).

En su libro *The Genetical Theory of Natural Selection* (La Teoría Genética de la Selección Natural), Fisher observó que la variación continua de las características de una especie podía deberse al efecto combinado de muchos cambios pequeños en los genes, así como que la selección natural podía influir en la frecuencia alélica de una población, induciendo su evolución. Por otro lado, Sewall sugirió en 1932 que en poblaciones pequeñas y aisladas la endogamia y la deriva genética podían acabar produciendo una población de características diferentes al resto de la especie.

Los modelos de Genética de poblaciones permitieron deducir que la incidencia de las enfermedades autosómicas recesivas es inversamente proporcional a los niveles de variabilidad genética de una población. A su vez esa variabilidad depende de diversos parámetros (selección natural, endogamia, mutaciones, deriva genética por aislamiento geográfico, factores sociales, "cuellos de botella") que influyen sobre las frecuencias alélicas, en cada población^[12].

Esto significa que hay diferencias importantes en la frecuencia con la que ciertos alelos aparecen en las poblaciones humanas (fibrosis quística en poblaciones caucásicas, anemia falciforme en regiones africanas, enfermedad de Tay-sachs en judíos asquenazíes, distrofia miotónica en europeos), lo cual significa que ciertas enfermedades tienden a aparecer más en algunas regiones o razas, dato que se debe tener en cuenta a la hora de hacer una historia clínica y predecir la probabilidad de tener descendencia afectada.

Otra utilidad de la Genética de poblaciones es explicar ciertas enfermedades según el entorno en que se perpetúan. El ejemplo más conocido de esto es la alta prevalencia de anemia falciforme en las regiones africanas con alta incidencia de malaria, al evitar la forma alterada de los hematíes la infección por el parásito, lo cual hizo un efecto de selección natural sobre los individuos heterocigotos para la mutación que causaba la anemia en homocigosis^[17]. Otros ejemplos son la mayor tendencia a desarrollar mutaciones en áreas con mayor exposición a agentes mutagénicos, lo cual permite detectarlos y eliminarlos, o la mayor incidencia de enfermedades raras de herencia recesiva en las familias con muchos matrimonios de consanguineidad.

III.5- Genética bioquímica y molecular

Si bien el trabajo de Archibald Garrod sobre los errores congénitos del metabolismo demostró que había una relación entre genes y procesos enzimáticos, el mecanismo

que establece esa relación no se comprendió hasta los años 40, con los experimentos realizados por George Wells Beadle y Edward Lawrie Tatum sobre el moho del pan *Neurospora crassa*. Estos investigadores observaron que los genes producen enzimas que actúan directa o indirectamente en la cadena metabólica de síntesis de proteínas, de forma que, si se produce una mutación en el gen, la cadena metabólica de síntesis se bloquea en ese punto y el producto final no se genera.

Este trabajo permitió establecer claramente la relación entre la estructura molecular de un gen y su actividad bioquímica, ya que las mutaciones en los genes inducen su inactivación y, con ello, bloquean la cadena enzimática. A partir de esto se creó el concepto "Un gen, una enzima" (un gen específico codifica para una proteína específica^[18]), que si bien resultó no ser del todo correcto, sirvió para confirmar la influencia de la genética en bioquímica.

En 1949 se demostró que la anemia falciforme se transmite por herencia de forma autosómica recesiva al analizar los resultados estadísticos obtenidos de observar a los descendientes de individuos afectados, estableciendo que los individuos enfermos eran homocigotos y los heterocigotos eran sanos. Basándose en estos resultados, otro grupo de investigadores descubrió que los heterocigotos tenían dos tipos de hemoglobinas y, tras observar que los que tenían anemia falciforme solo tenían uno de los tipos de hemoglobina y los sanos tenían la otra, dedujeron que la hemoglobina alterada de los enfermos estaba asociada a la anemia. Finalmente, en 1956 se descubrió mediante técnicas de secuenciación de proteínas que la única diferencia entre ambas hemoglobinas era un aminoácido concreto en una posición determinada, demostrando que una alteración en un gen con herencia autosómica recesiva en la especie humana producía una alteración en la secuencia de aminoácidos de una proteína (hemoglobina), de forma que la relación entre los genes y las enzimas era de tipo informacional: un gen llevaba información o codificaba para una enzima.

III.6- Estudiando el ADN

En 1944, Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty publicaron un estudio demostrando que la información genética se encuentra recogida en el ADN, y no en las propias proteínas como se pensaba hasta ese momento^[19]. Esto cambió el interés de la comunidad científica por esta molécula, que había sido escaso hasta ese momento, y propició el avance de la Genética al identificar la molécula principal de los procesos que estudiaba. A partir de entonces, se profundiza en el estudio de la relación entre los genes y las proteínas, la influencia de la secuencia de nucleótidos en la ordenación lineal de los aminoácidos proteicos, y el impacto de la herencia en ambas.

En 1953, James D. Watson y Francis Crick, apoyándose en el trabajo de difracción de rayos X de Rosalind Franklin y Maurice Wilkins junto con datos de composición de bases de Erwin Chargaff, describen la estructura molecular del ADN, descubriendo así cómo el material hereditario podía ser duplicado o replicado. Un año más tarde, inspirado por los seminarios de Sanger sobre secuenciación de proteínas, Crick formuló la teoría de que el orden de los nucleótidos en el ADN determinaba la secuencia de aminoácidos en las proteínas, lo cual influía en su forma y en su función.

III.7- Evolución de la citogenética

La citogenética es la rama de la Genética que estudia la estructura, función y características de los cromosomas. Su comienzo se sitúa a mediados del siglo XIX, pero fue en el siglo XX, con el auge de la Genética y el descubrimiento de que los cromosomas contenían los genes, cuando empezó a cobrar importancia. Durante la primera mitad del siglo, la pregunta principal era cuántos cromosomas había en las células humanas, y para responderla fue necesario desarrollar técnicas de visualización de dichas estructuras en células individuales. Por un tiempo se pensó que eran 48 debido al trabajo de Hans von Winiwarter en 1912, pero en 1955 el Tjio y Levan por un lado y Moorhead y su equipo por otro demostraron que eran 46.

Por otro lado, aunque los procesos de no disyunción cromosómica fueron observados por primera vez en 1908, no fue hasta mediados de la década de 1910 cuando se comenzó a comprender su asociación con ciertas enfermedades de origen genético, y no fue hasta 1959 que se observaron las primeras alteraciones en células humanas. Ese año se describió la primera patología citogenética humana en ser descubierta: la trisomía del cromosoma 21, también conocida como síndrome de Down, que es la alteración numérica más frecuente en la población mundial. La alteración estructural más frecuente es el síndrome de Cri du Chat (deleción en el cromosoma 5), que fue la primera patología definida como un síndrome de aberración estructural.

Entre finales de los 60 y principios de los 70 se observó que los cromosomas teñidos con ciertos colorantes, entre ellos los colorantes Giemsa, presentaban un patrón de bandas específico de cada uno, que ayudaba a identificarlo y a determinar si había alteraciones grandes en su estructura. Esta técnica se empleó para desarrollar el Cariotipo, que representa el patrón cromosómico característico de una especie según las particularidades de sus cromosomas, y que en clínica suele expresarse como un cariograma (representación visual de los cromosomas en metafase, ordenados según su morfología y tamaño). En la actualidad el Cariotipo permite predecir la transmisión de rasgos a la descendencia y diagnosticar y pronosticar el curso de diversos tipos de cáncer.

Hacia finales de los años 70 las técnicas de citogenética se habían desarrollado lo suficiente como para resultar de suma utilidad en la descripción de anomalías cromosómicas. En las congénitas esto permitía diagnosticar precozmente y determinar la naturaleza del defecto cromosómico en los estudios prenatales, mientras que en las adquiridas (células cancerosas) facilitaba la comprensión de la relación entre diversas translocaciones recurrentes y neoplasias hematológicas.

A lo largo de los 80 la técnica se fue perfeccionando y se descubrió que el bandeo permitía distinguir anomalías cromosómicas imposibles de observar con técnicas de coloración homogénea, por ejemplo las inversiones. En esta década se describieron también otras técnicas de marcaje de cromosomas como la Hibridación *in situ* con sondas fluorescentes (FISH por sus siglas en inglés), en la que se crean híbridos moleculares de ADN y ARN para determinar la secuencia de ácidos nucleicos. Esto permite asignar genes o marcadores a los cromosomas individuales, de forma que si un cromosoma es identificable mediante su patrón de bandas o cualquier otra característica de su estructura se puede determinar si un gen se encuentra en él gracias a la sonda, así como qué región cromosómica ocupa.

La combinación de la técnica FISH con métodos de separación de cromosomas permitió crear sondas de ADN específicas para cada par cromosómico^[22]. Estas técnicas de coloreado con fluorocromos ("pintado cromosómico") permitieron desarrollar métodos de comparación de genomas para detectar los patológicos (hibridización genómica comparativa o CGH, Array-CGH, SKY), facilitando la detección de anomalías cromosómicas en cuadros oncológicos y hematológicos, aunque no siendo tan útiles a la hora de detectar anomalías equilibradas (translocaciones recíprocas, inversiones).

Las anomalías estructurales adquiridas ocurren con frecuencia en células cancerosas de un individuo originalmente sano. El primer ejemplo descrito fue el Cromosoma Filadelfia, una translocación asociada a la leucemia mieloide crónica descubierta en 1960, aunque la estructura exacta (parte del cromosoma 9 y parte del 22 intercambian sus posiciones) se describió en el 73. En neoplasias hematológicas y tumores sólidos la presencia de determinadas alteraciones cromosómicas aporta información con importante valor diagnóstico y pronóstico^[23], con lo que los resultados citogenéticos no solo dirigen al diagnóstico a partir de las translocaciones cromosómicas presentes en las células malignas, sino que permiten la caracterización precisa de las leucemias, y aportan información esencial para determinar el pronóstico del cuadro y la susceptibilidad al tratamiento (la presencia de factores de mal pronóstico puede alterar la actitud terapéutica). Por ejemplo, la t(8;21)(q22;q22) indica buen pronóstico en la leucemia aguda no linfoblástica M2, mientras que la monosomía del cromosoma 7 o la detección de cariotipos complejos se relacionan con un pronóstico desfavorable.

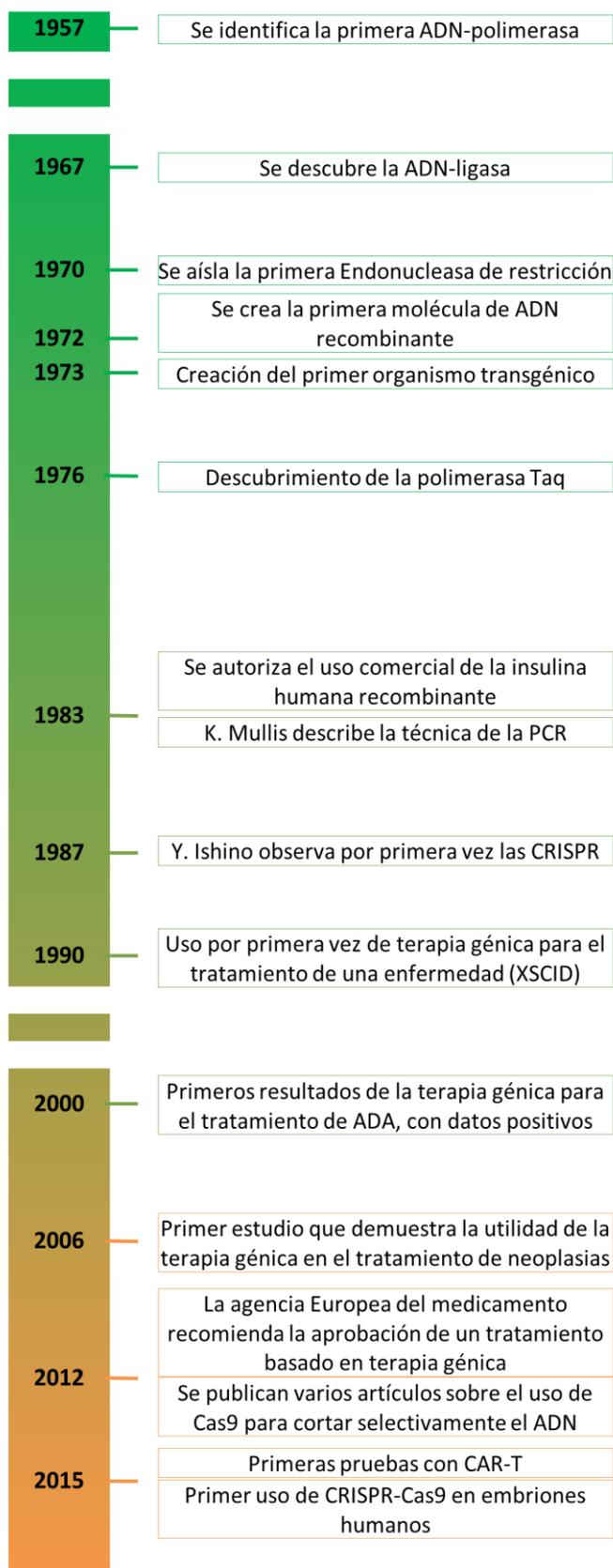
Cada vez es más frecuente que los protocolos clínicos incluyan en las decisiones terapéuticas el análisis genético de las células neoplásicas^[24], ya que este, aparte de aportar conocimiento de la alteración cromosómica, permite seguir la evolución de la enfermedad y valorar la respuesta a tratamiento. Por ejemplo, en las neoplasias hematológicas, el análisis citogenético convencional se ha incorporado a los laboratorios de Genética como una técnica de rutina, que complementa al diagnóstico morfológico e inmunofenotípico.

La caracterización de los genes localizados en los puntos de rotura implicados en las alteraciones cromosómicas asociadas específicamente a un tipo de cáncer ha permitido conocer la significación clínica de muchos marcadores citogenéticos y está ayudando a descubrir los mecanismos etiológicos de algunas neoplasias^[20], al ser un paso previo a la localización de los genes implicados en la génesis tumoral.

En investigación, la citogenética ayudó a explicar los mecanismos asociados a patologías genéticas de deficiencia en la reparación del ADN como la anemia de Fanconi y la ataxiatelangiectasia.

Otros campos en los que son útiles estas técnicas son evaluación de parejas con antecedentes de infertilidad o abortos, diagnóstico de anomalías genéticas en personas con fenotipos alterados, y ayuda en las técnicas de reproducción asistida mediante diagnóstico genético preimplantatorio.

IV. La revolución del ADN recombinante y las técnicas de manipulación del genoma



El ADN recombinante es una molécula de ADN creada en el laboratorio mediante técnicas de recombinación genética que unen secuencias obtenidas de fuentes distintas (otras especies, moléculas de ADN creadas mediante síntesis química...). Mediante estas técnicas de edición del genoma podemos modificar el ADN de un organismo para inducir la expresión de rasgos nuevos o alterar los ya existentes añadiendo, quitando o alterando la localización de los genes. Esto requiere la combinación de tecnologías de manipulación del ADN con métodos de introducción del ADN en los organismos diana. Los hitos más importantes del rápido desarrollo de estas tecnologías y su integración en la práctica médica se reflejan en la línea temporal representada en la *Figura 2*.

IV.1- Tecnología del ADN recombinante

El concepto de "transformación genética", es decir que el material genético de un organismo se transmita a otro y lo altere fenotípicamente, surgió por primera vez en 1928, con los experimentos de Frederick Griffith. Al principio la falta de herramientas que permitieran la alteración precisa del genoma limitaba mucho la utilidad de las técnicas de manipulación, pero tras el descubrimiento de las endonucleasas de restricción, y con ayuda de las nuevas tecnologías de mapeo y secuenciación rápida de genes, la tecnología del ADN recombinante *fue desarrollándose* y facilitando los avances de la ingeniería genética.

IV.1.1- Enzimas de restricción y ligación

Figura 2. Principales hitos en las técnicas de manipulación del genoma

Las endonucleasas de restricción son enzimas capaces de reconocer una secuencia de nucleótidos (la diana de restricción) en la cadena de ADN y cortarla en ese punto. Su descubrimiento marcó el inicio del desarrollo de las técnicas de ADN recombinante al ofrecer una herramienta que permitía encontrar y aislar secuencias concretas de ADN, ofreciendo precisión al manipular el ADN.

Su existencia se postuló a principios de los años cincuenta, cuando el estudio de los virus bacteriófagos^[41] puso de manifiesto que las bacterias tenían un mecanismo de defensa contra la inserción de nuevas secuencias de ADN, y, tras años de investigación, la primera Endonucleasa de restricción se aisló en 1970^{[48][49]}. Por otro lado, en la década de los sesenta, se demostró que el proceso dependía de enzimas que cortaban el ADN viral^{[44][45]} y se descubrió la ADN-ligasa responsable de unir moléculas de ADN^[46]. Además la investigación sobre los mecanismos de aparición de resistencias a antibióticos llevó al descubrimiento de los plásmidos, pequeñas moléculas de ADN que se encuentran en el interior de las bacterias y se replican por separado del resto del ADN y que, más tarde, empezaría a usarse como vectores para transferir eficientemente genes a las bacterias^[47].

Estos componentes, las enzimas de restricción como "tijeras" para cortar las hebras de ADN, la ADN-ligasa como "pegamento" para unirlos y los plásmidos como vectores para introducir la secuencia en la diana, son la base de la tecnología del ADN recombinante. En 1972 la combinación de los tres permitió la síntesis de la primera molécula de ADN recombinante, que se creó *in vitro* y se introdujo en una *E. coli*, dándole las características de la secuencia introducida.

Un año más tarde se creó el primer organismo transgénico (que contiene y replica información genética procedente de otra especie), gracias al descubrimiento de un vector adecuado para introducir genes en células de mamíferos. Esto demostró que la tecnología se podía aplicar a cualquier secuencia de ADN independientemente de las especies involucradas^[50].

En 1977 el uso de la E. coli para producir somatostatina humana estableció esta bacteria como el organismo de preferencia para producir proteínas recombinantes^[31] y en 1983 se autorizó el uso del primer tratamiento creado mediante esta tecnología, la insulina humana genéticamente modificada^[32], que fue sintetizada por primera vez en 1978 y sustituyó a la insulina animal empleada hasta ese momento. Desde entonces el continuo desarrollo y descubrimiento de nuevas técnicas ha permitido alcanzar altos niveles de precisión a la hora de manipular el genoma.

IV.1.2- Reacción en Cadena de la Polimerasa

La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR, de *Polymerase Chain Reaction*) es una técnica de biología molecular que permite replicar repetidamente un fragmento de ADN para conseguir un gran número de copias a partir de una cantidad muy pequeña de este fragmento. No requiere una célula viva para llevarse a cabo ni la manipulación de secuencias de ADN, ya que puede hacerse *in vitro* y funciona amplificando una secuencia ya existente.

La primera ADN-polimerasa se identificó en 1957^[51], y durante los años sesenta se desarrollaron diversas técnicas necesarias para crear oligonucleótidos sintéticos (usados como cebadores para la polimerasa). En 1976 se describió la polimerasa Taq de la bacteria *Thermus aquaticus*^[52], cuya capacidad de mantenerse estable a las altas temperaturas necesarias para desnaturalizar la cadena de ADN permitió la automatización de las técnicas de replicación al evitar tener que añadir polimerasas en cada ciclo^[53]. Todos estos descubrimientos aportaron las bases para que, entre 1983 y 1986, Kary Mullis y sus colegas presentaran varias publicaciones describiendo la Reacción en cadena de la polimerasa^{[54][55]}. Esto revolucionó las técnicas existentes para crear ADN recombinante, al ofrecer una forma rápida de identificar y amplificar una secuencia específica de ADN a cuyos extremos, además, se podían añadir, mediante oligonucleótidos diseñados a tal fin, las secuencias adecuadas para permitir su inserción en vectores de clonado.

Su principal aplicación directa en medicina es como herramienta para el diagnóstico, incluyendo detección de mutaciones causantes de enfermedades genéticas, sobretodo en el análisis prenatal y en el diagnóstico preimplantacional, y análisis del genotipo de células cancerígenas tanto para tipificar sus oncogenes y poder diseñar un tratamiento adecuado contra ellos, como para diagnosticar la neoplasia en sí.

Otro uso en el campo de las enfermedades infecciosas es la detección de agentes infecciosos y la determinación de su virulencia en función de su genotipo, así como valorar las resistencias a antibióticos, facilitando el tratamiento. La técnica puede identificar microorganismos de difícil cultivo, como *Micobacterium tuberculosis*, y virus, como el VIH^[56], facilitando el diagnóstico precoz de la infección y la valoración de la efectividad del tratamiento empleados. También se usa para detectar agentes infecciosos en las donaciones de sangre y estudiar la propagación una epidemia en medicina preventiva.

IV.1.3- Creación e introducción del ADN recombinante en las células

Para crear ADN recombinante primero se escoge la secuencia que se quiere transmitir o manipular, por ejemplo para producir grandes cantidades de la proteína codificada por el gen en cuestión, y se obtiene una copia de la molécula, ya sea mediante síntesis química o extrayéndola del organismo de origen. A continuación se emplean las endonucleasas o enzimas de restricción para cortar el fragmento de ADN, que luego se inserta mediante una ADN-ligasa en el vector de clonación, por ejemplo un plásmido o un virus.

Una vez creada la molécula de ADN recombinante deseada, hay que introducirla en el organismo huésped al que se va a transmitir, que puede ser desde una bacteria que queremos transformar en una bio-factoría hasta un ser humano que queremos curar mediante modificación genética de sus células. En el primer caso es una elección frecuente la bacteria *Escherichia coli*, ya que al haber sido uno de los primeros organismos en usarse se conocen bien sus características^[26]; su principal inconveniente es que no tiene mecanismos de modificación post-traduccional, por lo que hay algunas proteínas eucariotas que no puede producir

correctamente^[33]. Otros organismos que sí cumplen esa función son levaduras o células de organismos pluricelulares, pero su manejo es más complejo.

Esta introducción del material genético en las células diana puede realizarse mediante diversas técnicas de biología molecular, siendo la más comúnmente empleada la Transformación. El método consiste en modificar la permeabilidad de la envuelta celular para facilitar la entrada del ADN modificado, que además contiene un marcador que permite distinguir las células transformadas de las no transformadas. Otras técnicas son la Transformación no bacteriana, en la que se usan otros métodos para introducir el ADN (por ejemplo inyectarlo directamente en el núcleo de la célula eucariota) o la Introducción mediada por virus.

IV.2- Edición genómica y CRISPR/Cas9

A finales de los años noventa se comenzó a experimentar con métodos para el corte selectivo del ADN de gran tamaño (como los cromosomas eucariotas), siendo la primera tecnología desarrollada las nucleasas con dedos de zinc (ZFN)^[40], al principio de los años 2000. Estas enzimas reconocen combinaciones de 3 pares de bases de forma específica, pero es un proceso complicado que no siempre funciona^[62]. La siguiente técnica que se creó fueron las TALENs, nucleasas sintéticas más sencillas de manipular y específicas que las ZFNs, pero que seguían requiriendo la creación de proteínas específicas para el ADN diana. Debido a la dificultad en el empleo de estas técnicas, el descubrimiento, a principios de la siguiente década, del método CRISPR/Cas9 significó una revolución en el campo de la manipulación genética^[58].

A diferencia de los sistemas anteriores, el método CRISPR/Cas9 solo requiere una molécula de ARN complementaria a la secuencia diana para dirigir a la nucleasa a un punto específico del genoma^[57], lo cual es mucho más sencillo que diseñar *de novo* una proteína con distinta especificidad de unión al ADN. Esto no solo convierte la técnica en un método de edición del genoma preciso y eficiente, sino también en el más sencillo y barato que hay en la actualidad^[36].

La técnica consiste en emplear una nucleasa específica de la secuencia de la propia bacteria para seleccionar un punto concreto y cortarla, como se muestra en la **Figura 3**.

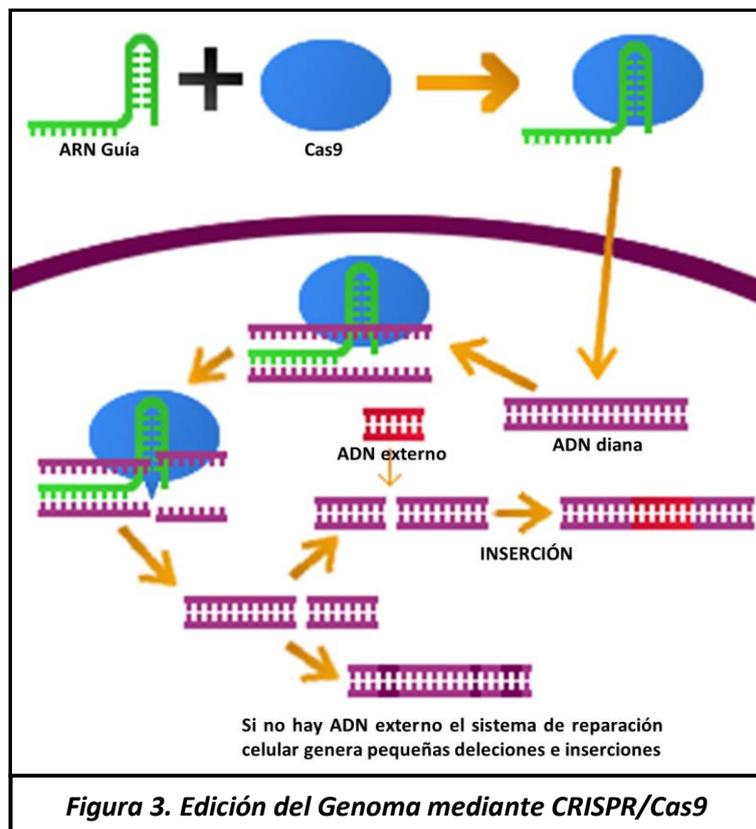


Figura 3. Edición del Genoma mediante CRISPR/Cas9

Primero se sintetiza una molécula de ARN guía complementario a la secuencia de ADN que se quiere modificar al que se asocia la enzima Cas9 (u otras enzimas similares). Esta molécula reconoce la secuencia diana en el genoma y se hibrida con ella, provocando que la enzima introduzca un corte de doble cadena en la región deseada. A continuación, se activan los mecanismos celulares de reparación del ADN, lo que conlleva la introducción de pequeñas inserciones y deleciones que inactivan la secuencia codificante. Si, en lugar de dejar que la secuencia se repare sin más, se añade un ADN externo con la homología adecuada, se aprovecha el mecanismo de reparación para integrar esa nueva secuencia de bases en el lugar donde la nucleasa ha introducido el corte^{[36][59]}.

La utilidad de las Cas (nucleasas asociadas a secuencias CRISPR) como herramientas de manipulación del genoma se comenzó a descubrir en 2012 y 2013. Durante estos años se publicaron varios artículos que demostraban que Cas9 podía programarse para cortar sitios concretos del ADN tanto *in vitro* como en las células, resultando en una técnica mucho más específica y sencilla de usar^[39]. Poco después de su descubrimiento algunos predecían que acabaría sustituyendo por completo a las técnicas existentes en el momento^[40], lo cual no ha resultado ser del todo cierto, al menos de momento.

La investigación sobre este método de manipulación del genoma ha ofrecido múltiples posibles aplicaciones en medicina y en 2015 se utilizó por primera vez en embriones humanos. Sin embargo, al ser una tecnología relativamente nueva, todavía no hay muchos usos directos, siendo la mayoría de las aplicaciones en medicina aún experimentales. En 2016 se llevaron a cabo varios ensayos clínicos para valorar su uso en el tratamiento de enfermedades genéticas congénitas como la cardiomiopatía hipertrófica^[63] y se realizó el primer uso terapéutico cuando unos investigadores introdujeron células modificadas mediante la técnica en un paciente con cáncer de pulmón^[42]. También se está investigando su empleo en cuadros como la anemia falciforme^[64], y se han llevado a cabo múltiples ensayos clínicos para emplearla en el tratamiento de diversos cuadros aunque, con algunas excepciones, todavía no se han aprobado pruebas en humanos. En la siguiente sección (*Apartado IV.3.2*) se comentan algunos de los ensayos que sí se están realizando en humanos.

IV.3- Aplicaciones en medicina

Las técnicas de manipulación del ADN se pueden emplear para prevenir y tratar muchos procesos, y en la actualidad se siguen investigando sus usos tanto en el tratamiento de enfermedades de herencia mendeliana como para manejar cuadros más complejos. También han ayudado en la creación de muchos productos farmacéuticos y pruebas de laboratorio, porque la capacidad para crear proteínas recombinantes en sistemas microbianos ha facilitado la producción de grandes cantidades de la proteína purificada, lo cual permite su obtención de forma mucho más eficaz y segura que los antiguos métodos de purificación a partir de plantas o tejidos animales^{[25][26]}. Además, las proteínas recombinantes se usan como reactivos en experimentos de laboratorio.

Su uso más extendido es en investigación genética^[26], donde permiten estudiar los genes, determinar su secuencia, identificar su función y analizar su expresión. Este conocimiento es indispensable en la comprensión de las enfermedades genéticas, así

como en el diseño de modelos de estudio, la creación de pruebas de diagnóstico y el desarrollo de tratamientos.

Las tecnologías de manipulación genética se han usado también para crear los principales test de diagnóstico de infección por VIH. El test de anticuerpos emplea una proteína de VIH recombinante con los test de ELISA o *Western blot* para detectar si hay anticuerpos contra el virus en la sangre del paciente, mientras que el test de ADN mediante PCR con retrotranscriptasa (RT-PCR) se desarrolló empleando técnicas de clonación molecular y análisis de secuencias del genoma del VIH.

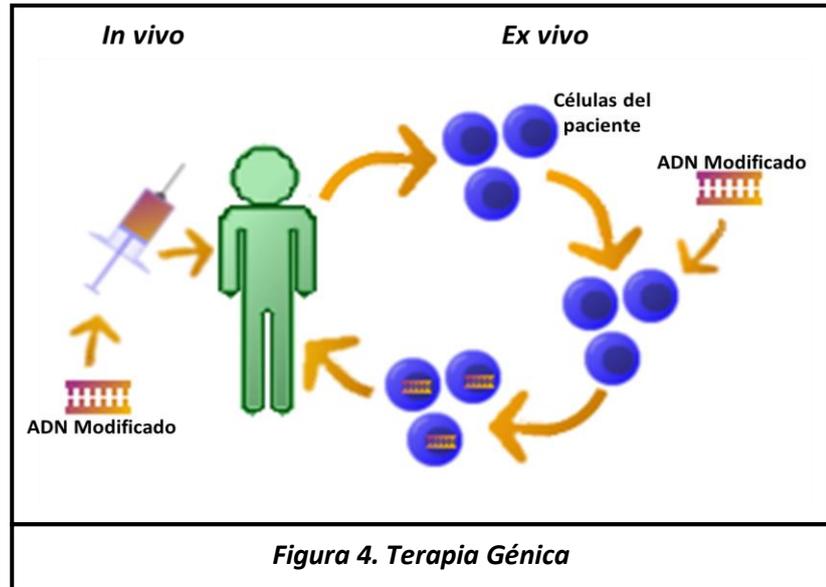
La creación de microorganismos modificados genéticamente para generar productos farmacológicos como hormonas, componentes del sistema inmune o enzima, usadas en enfermedades genéticas debidas a déficits enzimáticos, ha significado un avance importante en el tratamiento de muchas enfermedades. Un ejemplo es la Insulina humana recombinante para tratar la diabetes mellitus, que fue el primer producto recombinante en comercializarse^[25] (antes se empleaba la derivada de animales). Otro es la Hormona del crecimiento humano recombinante para el tratamiento de pacientes con desórdenes de crecimiento, que sustituyó por completo a la obtenida de cadáveres y, con ello, eliminó el riesgo que conllevaba de causar prionopatía^[34]. En hematología ha permitido el desarrollo del Factor de coagulación VIII recombinante para tratamiento de la hemofilia, que redujo el gasto de sangre donada permitiendo su uso en otros pacientes^[35], y la Eritropoyetina para la anemia, por ejemplo para pacientes con insuficiencia renal crónica. También se ha empleado para desarrollar vacunas, por ejemplo la de la hepatitis B, que previamente carecía de vacuna al no poder cultivarse el virus *in vitro*.

IV.3.1- Terapia génica

La terapia génica es el conjunto de técnicas terapéuticas que emplean métodos de edición y transferencia del material genético para introducir secuencias concretas de ácidos nucleicos en el genoma de las células de un paciente. La estrategia más común consiste en implantar una copia del gen sano para sustituir la función del gen defectuoso, restableciendo un proceso que ha quedado abolido, pero también hay terapias que inducen funciones completamente nuevas o que inhiben la función de genes que causan de forma activa la enfermedad.

Los tipos de terapia génica varían en el material genético que se transfiere (el gen que se quiere introducir), el método de transferencia (el vector, que puede ser viral o no viral, debe transmitir el material genético a las células apropiadas y tener acceso al tejido correspondiente) y la célula diana cuyo genoma se quiere modificar (el proceso puede realizarse en las células *ex vivo* para luego reintroducirlas en el paciente o *in vivo* empleando métodos que permitan la llegada de la cadena a la célula diana, como se muestra en la **Figura 4**). Actualmente solo está permitida la terapia génica en células somáticas, habiéndose prohibido su uso en células germinales por limitaciones técnicas y motivos éticos.

El concepto de terapia génica comenzó a desarrollarse en los años setenta después de que Friedmann y Roblin publicaran en 1972 un artículo sugiriendo el uso de técnicas de manipulación



de ADN para sustituir las secuencias defectuosas por secuencias sanas^[73], siguiendo las ideas propuestas por otros investigadores.

En las décadas siguientes se investigó sobre estas nociones, haciéndose innovaciones como el diseño de vectores que empleaban retrovirus para insertar genes en el material genético. El primer uso exitoso con intención terapéutica fue un ensayo clínico, financiado por los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos, que comenzó en 1990 y consistía en un tratamiento para la deficiencia de adenosina desaminasa propuesto por William French Anderson que empleaba vectores retrovirales para insertar copias del gen que codifica para la proteína^[25].

A lo largo de esta década se realizaron también estudios sobre su aplicabilidad en cáncer y enfermedades hematopoyéticas. A finales de los años noventa se produjo un nuevo éxito terapéutico con el tratamiento de un grupo de niños con una inmunodeficiencia ligada al cromosoma X (XSCID) que mostraron clara mejora de los síntomas tras el tratamiento^[74], siendo destacable que la cura era permanente porque las células modificadas permanecían en los pacientes de forma estable. Debido a falta de conocimiento sobre el comportamiento del vector retroviral en aquel momento, dos de ellos acabaron desarrollando leucemia aguda a causa de la terapia al activarse un oncogén como resultado de la inserción del retrovirus^[75].

A partir del 2000 la investigación sobre técnicas de terapia génica empezó a acelerarse, haciéndose estudios sobre su aplicación en enfermedades monogénicas, degenerativas, hematológicas y tumorales. En 2006 un estudio de los Institutos Nacionales de Salud estadounidenses fue el primero en demostrar que esta clase de terapia podía ser efectiva en el tratamiento de neoplasias^[76].

A finales de esa década y principios de la siguiente se estaban realizando múltiples ensayos sobre su uso en enfermedades de muy diversas especialidades médicas, y había resultados alentadores en muchos de ellos. A mediados de 2012

la Agencia Europea del Medicamento recomendó por primera vez la aprobación de un tratamiento basado en terapia génica, en concreto de un fármaco para la deficiencia de lipoproteín lipasa^[77].

El número de ensayos con resultados positivos, de curación o, al menos, mejora de los síntomas, ha seguido creciendo, y actualmente se están realizando decenas de ensayos^[25] que se aplican no solo a procesos de carácter monogénico, sino también a procesos de etiopatogenia multifactoral como infección por VIH, cáncer, aterosclerosis, enfermedades autoinmunes, enfermedades hematológicas.

Debido a que son técnicas de reciente descubrimiento, sus usos están aún siendo investigados y la mayoría de aplicaciones se limitan a pruebas en ensayos clínicos. Una de estas aplicaciones es el tratamiento de enfermedades hereditarias monogénicas, sobretodo deficiencias enzimáticas en las que se puede sustituir el gen deficitario, y adquiridas, en las que en teoría la introducción de ciertos genes podría revertir o ralentizar el proceso de desarrollo de enfermedades como la diabetes, la aterosclerosis^[79] o la cirrosis^[80]. Otros usos intentados son el tratamiento de enfermedades infecciosas, como la hepatitis o el SIDA, y de tumores, sobre todo en procesos sin un tratamiento eficaz o en los que el tratamiento convencional ha fracasado. También tiene aplicaciones en el diagnóstico, como el marcaje genético de células específicas para saber si una recaída tras un tumor se debe a la misma línea celular del tumor original.

Algunos tratamientos que se han empezado a aprobar en la práctica clínica son Strimvelis para la deficiencia de adenosina deaminasa en Europa y Tisagenlecleucel para leucemia aguda linfoblástica.

La incorporación de las nuevas tecnologías de edición genética a la terapia génica, especialmente el CRISPR/Cas9, ha ampliado mucho las posibilidades terapéuticas. Si bien, debido a su reciente desarrollo, la mayoría aún están en fase de investigación, algunos ensayos ya han llegado a su fase de aplicación en humanos, e incluso hay tratamientos que se han comercializado.

Uno de estos tratamientos es Luxturna^[43], una terapia génica que introduce una variante normal del gen mutado en las células de la retina para contrarrestar los efectos de la mutación y que ha sido aprobado por la FDA estadounidense para el manejo de enfermedades retinianas como la amaurosis congénita de Leber, un grupo de patologías en las que se está investigando mucho con CRISPR/Cas9.

Otro tratamiento que ya se está probando en humanos es CTX001, una técnica que consiste en modificar las células madre hematopoyéticas para inducir la formación de hemoglobina fetal con la esperanza de que al reintroducirlas en el paciente esta hemoglobina contrarreste la enfermedad causada por la hemoglobina adulta patológica^[38], y que también ha sido aprobada recientemente para pruebas en humanos por la FDA estadounidense^[42].

Por otro lado, se está investigando el uso de estas terapias en enfermedades degenerativas neurológicas como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington o la distrofia muscular de Duchenne. Estas dos últimas, al ser enfermedades asociada a un gen concreto, son buenas candidatas a tratamiento por modificación genética^{[38][43]}.

Contra la infección por VIH se han sugerido tanto mecanismos que usan CRISPR/Cas9 para inducir resistencia a la infección en las células inmunes^[65] como sistemas que paralizan la extensión de la infección al evitar la inserción del genoma viral en las células^[66]. También se han investigado terapias contra el virus del papiloma humano (HPV) basadas en la disrupción de la secuencia genómica vírica^[67], lo cual ayudaría en la prevención del cáncer de cuello uterino.

Otras terapia tumoral que se está investigando son tratamientos para las neoplasias de pulmón y esófago (ambos se asocian a la expresión de PD-1 en la superficie celular, con lo que se está investigando una técnica de CRISPR-Cas9 para parar esta expresión) y para la leucemia linfoblástica aguda^[43].

También se ha investigado el uso de tratamientos basados en la tecnología CRISPR/Cas9 en la diabetes mellitus tipo 1^[38] y la malaria (se han sugerido tanto métodos para erradicar la población de mosquitos *Anopheles*^[68] como para hacerlos resistentes a la enfermedad^[69]). Otro uso sugerido es como antibiótico contra especies multi-resistentes^[70], usándolos contra los genes que provocan la resistencia, pero habría que encontrar una forma de administrar las enzimas a las bacterias.

En aplicaciones no terapéuticas podría usarse para detectar cambios en la expresión genética que puedan resultar relevantes durante el tratamiento (por ejemplo desarrollo de resistencia a fármacos)^[71] o para crear modelos celulares o animales de enfermedad más similares a los humanos.

Por otro lado, no se deben olvidar las técnicas de modificación genética originales, que aún tienen aplicaciones en medicina. Las TALENs se han usado para desarrollar la terapia CAR-T, consistente en modificar linfocitos T obtenidos de los pacientes para que ataquen las células tumorales. Este tratamiento se emplea sobre todo en tratamiento de neoplasias hematológicas como la leucemia y las pruebas con él comenzaron en 2015^[42].

V. La genómica y la post-genómica

La genómica es un campo científico relativamente nuevo que forma parte tanto de la biología molecular como de la Genética, diferenciándose de la Genética tradicional en que no estudia los genes individualmente, sino que analiza el funcionamiento del genoma como una unidad, valorando las interacciones entre las unidades genéticas y el resto de factores que influyen en la salud. Emplea técnicas moleculares para obtener la secuencia y analizar mediante programas informáticos la información conseguida sobre los distintos genes y la variación que presentan los individuos de una especie.

Una de las subdisciplinas de este campo es la Genómica estructural, que compara la estructura física del genoma de distintos seres vivos. Otra es la Genómica funcional, que estudia la función del genoma y sus mecanismos de funcionamiento.

Esenciales en este proceso son las diversas técnicas bioquímicas de secuenciación de ácidos nucleicos, procesos que determinan el orden en el que se disponen los nucleótidos de una hebra de ADN. Su evolución ha jugado un papel muy importante en el desarrollo de la biología molecular y la genética. En la **Figura 5** se esquematiza la línea temporal de los avances en este campo y el desarrollo de sus aplicaciones a la Medicina.

V.1- Técnicas de secuenciación del ADN

La secuenciación de ADN se convirtió en un punto de interés entre los biólogos moleculares en los años cincuenta, a raíz de la publicación de su estructura en 1953 por parte de James Watson y Francis Crick y de la descripción de la secuencia de aminoácidos de la insulina en 1955 por Frederick Sanger. La investigación de Sanger sobre técnicas de secuenciación de proteínas inspiró a Francis Crick quien, basándose en sus experimentos, publicó en 1958 una teoría en la que exponía la idea de que la secuencia de aminoácidos en las proteínas, que determinaba su función, dependía de la secuencia de nucleótidos en el ADN^[82].

Interesada por este concepto, la comunidad científica comenzó a investigar cómo determinar el orden de las bases en las moléculas de ADN, y en 1965 se publicó la primera secuencia de una molécula de ARN^[88]. Más tarde, en 1972, el equipo de Walter Fiers logró la primera secuenciación de un gen completo, el de la cápsula proteica del

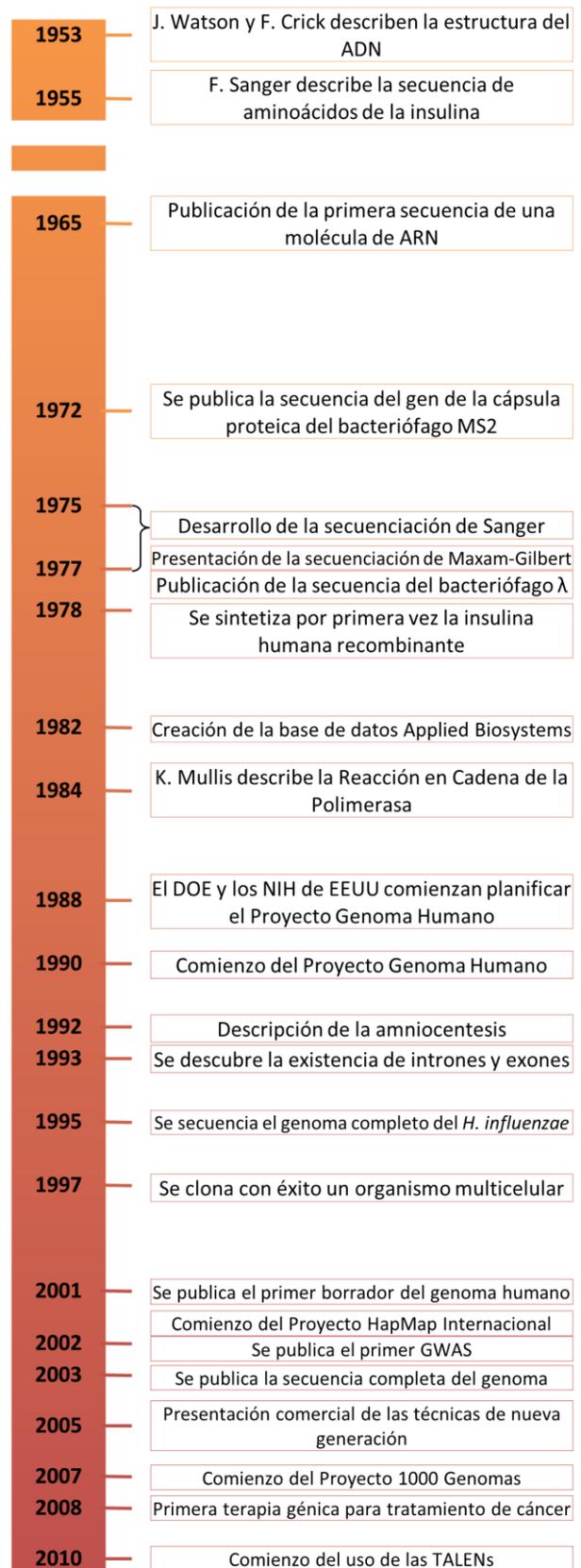


Figura 5. Eras de genómica y post-genómica

bacteriófago MS2^[89].

Sin embargo, el acontecimiento más importante de esta etapa de la Genética fue el desarrollo, entre 1975 y 1977, de un método de secuenciación de ADN por el equipo de Frederick Sanger^[90], proceso que culminó con la publicación de la primera secuencia del genoma completo de un organismo, el del bacteriófago lambda^[91]. La Secuenciación de Sanger, o secuenciación por terminación de la cadena, es un método enzimático que consiste en copiar repetidas veces el trozo de ADN que nos interesa mediante la ADN polimerasa y, al mismo tiempo, añadir nucleótidos alterados de tal forma que al usarlos la enzima detiene la síntesis de la cadena y marca su final^[92]. Estos fragmentos de longitudes distintas pueden separarse luego mediante electroforesis en gel según su tamaño, permitiendo así dilucidar la secuencia según los fragmentos obtenidos al conocer el nucleótido alterado que se ha añadido.

Al mismo tiempo que se presentó la secuenciación de Sanger, otro grupo de investigadores publicó la Secuenciación de Maxam-Gilbert o secuenciación química, en la que se rompe la molécula con varios métodos de forma que se escinda la cadena en una zona con un nucleótido específico^[93]. Al principio tenía la ventaja de que no era necesario sintetizar la molécula de ADN, lo que la hacía preferible a la técnica de Sanger, pero con el tiempo el refinamiento del método de Sanger y la complejidad de la secuenciación de Maxam-Gilbert acabó haciendo que la primera se empleara más. La secuenciación de Sanger continuó siendo el método de referencia empleado para la secuenciación y análisis de ADN hasta la creación de las técnicas de segunda generación a principios de los 2000, casi de 30 años después.

La tecnología de secuenciación se fue desarrollando con el tiempo, y a finales de los años setenta la automatización de la técnica y el desarrollo de mejoras como el marcaje fluorescente o la electroforesis capilar incrementaron la velocidad de secuenciación y la cantidad de información que producía, bajando su precio y aumentando su eficacia^[83]. Esto propició a su vez la creación de los primeros bancos de datos y herramientas de análisis capaces de manejar tal cantidad de información, como GenBank o Applied Biosystems en 1982.

Durante los años ochenta se presentaron nuevas técnicas que optimizaron la secuenciación genética y se profundizó en el estudio de los genes y su variación en relación con diversas enfermedades. En 1984 Kary Mullis describió la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), método que permite amplificar secuencias específicas de ADN, y se logra secuenciar el ADN del virus de Epstein-Barr, lo cual es relevante porque, a diferencia de con las secuenciaciones anteriores, no se disponía de información genética previa de este virus. En 1986 se sugiere por primera vez el término de genómica para referirse a la rama de la Genética que estudia la secuencia completa del genoma para analizar sus funciones.

El siguiente gran paso en la historia de la secuenciación fue el comienzo, en 1990, del Proyecto Genoma Humano. Esta iniciativa impulsó el desarrollo de nuevas técnicas, al presentar un reto que requirió la optimización de los métodos empleados hasta entonces y la creación de nuevas herramientas capaces de responder a las necesidades de los investigadores para mapear el genoma completo. En 1995 se secuenció por

primera vez el genoma completo de un organismo no viral, el *Haemophilus influenzae*^[94].

Tras la publicación de la secuencia del genoma humano, las técnicas continuaron avanzando, lo cual permitió la secuenciación del material genético de cientos de organismos y el uso de la tecnología de secuenciación en el laboratorio. En 2005 la presentación comercial de las técnicas de nueva generación, plataformas de secuenciación masiva que se caracterizan por poder secuenciar grandes cantidades de ADN en poco tiempo, revolucionó de nuevo el campo de la investigación en Genética y Biología molecular^[87]. Su rápida evolución, gran rendimiento y alta precisión han significado un gran avance, al facilitar su uso por la comunidad científica para estudiar con más detalle la secuencia genética.

El punto fuerte de los métodos de segunda generación es su capacidad para descifrar la secuencia a gran escala, ya sea de moléculas grandes o de grandes cantidades de secuencias cortas, aumentando la velocidad y reduciendo el precio. Así, mientras que los métodos de primera generación tardaron años en secuenciar el genoma humano entero, los métodos actuales pueden hacerlo en días, y cada vez de forma más rápida. Esto se debe a que realizan la secuenciación de forma simultánea (en paralelo) y cada reacción ocupa poco espacio, permitiendo que se hagan muchas en una superficie pequeña. Las secuencias largas se analizan fragmentándolas mediante enzimas de restricción o de forma mecánica para leer la secuencia de los pedazos y luego reconstruirla como si fuera un puzzle.

Tabla 1. Comparación de las técnicas de secuenciación^{[165][166][167][168][169]}

		TÉCNICA	PARES DE BASES	TIEMPO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
1ª Generación	Secuenciación de Sanger	Didesoxinucleótidos trifosfato	1000	horas	Preciso Secuencia cadenas largas	Alto precio Mayor complejidad de la técnica
	Secuenciación de Maxam-Gilbert	Fragmentación química	500	horas	No necesita sintetizar la cadena complementaria a la secuencia diana	Mayor complejidad de la técnica Uso de productos peligrosos
2ª Generación	454 Life Sciences	Pirosecuenciación	400-600	horas	Rápido Secuencia cadenas largas	Alto precio
	SOLiD	Secuenciación por ligasa	100	semanas	Bajo precio	Secuencia un número bajo de bp Lento
	Ion Torrent	Secuenciación mediante semiconductor	400	horas	Rápido Bajo precio	Secuencia un número bajo de pb
	SOLEXA	Secuenciación por polimerasa con terminadores reversibles	300-500	días	Bajo precio Secuencia cadenas largas	Costoso de adquirir y mantener Requiere grandes cantidades de ADN
3ª Generación	Polimerasa PacBio	SMRT (<i>Single Molecule, Real time</i>)	5000-8000	horas	Rápido Secuencia cadenas muy largas	Baja precisión Requiere grandes cantidades de ADN
	Helicos GAS	SMFS (<i>Single Molecule Fluorescent Sequencing</i>)	10 kb	días	Preparación simple de las muestras	Secuencia un número bajo de pb Lento

En la actualidad están comenzando a aparecer métodos de tercera generación (secuenciación con nanoporos, polimerasa de PacBio, *Ion Torrent*), que no requieren amplificación previa del ADN para secuenciarlo y pueden leer cadenas más largas^[37]. La comparación de las ventajas e inconvenientes de cada técnica aparece en la **Tabla 1**.

Otros métodos usados actualmente son la secuenciación por hibridación (se emplea un chip de ADN que tiene moléculas de secuencia conocida marcadas con fluorescencia, de tal forma que si el ADN de secuencia desconocida se hibrida con la secuencia conocida quiere decir que tiene la misma secuencia^[158]), la espectrometría de masas (similar a la hibridación a gran escala pero en lugar de electroforesis en gel estudia la diferencia de masas entre las moléculas obtenidas) o el microscopio electrónico (detecta las posiciones de los nucleótidos dentro de los fragmentos de ADN marcados).

V.2- El Proyecto Genoma Humano

El Proyecto Genoma Humano fue un programa de investigación colaborativo promovido por un Consorcio público internacional (la mayor parte la descifró Estados Unidos, pero otros países como Reino Unido, Japón, Francia, Alemania o China hicieron aportaciones importantes^[3]) cuyo objetivo consistía en determinar la secuencia genética básica de la especie humana, mapeando por completo el genoma para comprender mejor su naturaleza y características.

De forma secundaria, también promovió la secuenciación del genoma de especies cuya fisiología y mecanismos bioquímicos se conocían bien, principalmente animales de laboratorio, con la intención de que sus secuencias facilitaran la identificación de genes en la cadena humana y orientaran hacia su función^[99].

La idea de secuenciar el genoma humano comenzó a surgir en los años ochenta, con la evolución de los métodos de secuenciación de ADN. En 1987 el Departamento de Energía (DOE) y los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de Estados Unidos plantearon estudiar la secuencia, y un año más tarde acordaron colaborar en este cometido y comenzaron a planificar el proyecto, presentando en 1990 un plan conjunto de investigación que establecía metas específicas de lo que preveían como un trabajo que duraría 15 años.

En octubre de ese año comenzó oficialmente el Proyecto y durante los primeros años de la iniciativa se invirtió mucho trabajo en desarrollar las tecnologías de secuenciación para acelerar el proceso, lo cual, junto a la colaboración internacional y los avances en genómica e informática, permitió ir acelerando el ritmo de secuenciación paulatinamente. También se dedicó una parte del presupuesto al estudio de las consecuencias éticas, legales y sociales del proyecto^[100]. Las actualizaciones publicadas periódicamente reflejaban los avances en los métodos y tecnologías empleadas, y para 1998 ya se preveía que el proyecto habría terminado al menos 2 o 3 años antes de lo estimado originalmente^[96].

Se decidió que, para fomentar la coordinación de los esfuerzos de secuenciación y evitar la duplicación de tareas, todos los datos obtenidos debían ser de dominio público^[3] y, a raíz de esto, se crearon bases de datos con la información obtenida que se actualizaban diariamente. Estas bases de datos siguen empleándose hoy en día para

depositar y compartir la información genética recogida por la comunidad científica^[96], y la decisión de compartir la información ha beneficiado enormemente a la comunidad científica en general y a la investigación genética en particular, al facilitar el estudio de la relación entre los genes y la enfermedad, incrementando exponencialmente el número de ensayos realizados sobre el tema.

En 1998 la empresa privada *Celera genomics* manifestó la intención de determinar la secuencia genómica humana antes de lo previsto por la iniciativa pública mediante un método de secuenciación alternativo, la secuenciación aleatoria, empleada en 1995 para secuenciar el genoma del *Haemophilus influenzae*^[13]. Esto impulsó aún más el ritmo de desciframiento de la secuencia en las últimas etapas de la tarea.

Al final, tanto la iniciativa pública como la privada anunciaron conjuntamente la presentación del primer borrador de la secuencia, y en febrero del 2001 el Consorcio Internacional de Secuenciación del Genoma Humano publicó un borrador inicial que contenía el 90% de la secuencia del genoma humano. La secuencia completa se publicó finalmente en abril del 2003.

El Proyecto facilitó el estudio del genoma, abriendo nuevos caminos en la investigación de biomedicina y Genética clínica. Por un lado, disponer de un modelo de ADN con el que comparar las secuencias estudiadas en análisis genéticos facilitó la descripción de nuevos genes, la detección de mutaciones asociadas a enfermedades y el estudio de la variabilidad humana y lo que significa para la salud de las personas. Por otro, conocer la secuencia del genoma humano ayudó a comprender los mecanismos biológicos y la base molecular de enfermedades genéticas hereditarias y adquiridas, facilitando su diagnóstico, tratamiento y prevención.

Con respecto al diagnóstico, el diseño de pruebas genéticas se hizo más fácil al conocer los genes que causan o predisponen a desarrollar una enfermedad, ofreciendo métodos no invasivos de detectar mutaciones de riesgo y permitiendo predecir y, en ocasiones, prevenir la aparición de algunas patologías al indicar la probabilidad de desarrollarlas.

Para el tratamiento, el Proyecto Genoma Humano fue un paso esencial en el desarrollo de la farmacogenética, ya que generó los datos que permiten diseñar fármacos de forma que se adecúen a la genética de los pacientes y seleccionar el tratamiento adecuado para cada caso, teniendo en cuenta las mutaciones que causan reducción o incremento de la efectividad de un medicamento. La información que proporcionó también es esencial en el desarrollo de la terapia génica, que ofrece la posibilidad de tratar y eliminar las alteraciones mapeadas gracias a él.

Muchas de estas aplicaciones de la información conseguida mediante el Proyecto Genoma Humano ya se preveían a principios de los años 2000, antes de su finalización. Por ejemplo, varios artículos^{[3][97]} predecían su uso para estudiar y comprender la patogenia de las enfermedades hereditarias, crear fármacos específicos para las enfermedades en las que se usan, determinar la respuesta de una persona a un fármaco a partir de su genética, avanzar en el campo de la terapia génica, diseñar test genéticos para enfermedades comunes (si bien les atribuía mayor difusión de la que

han acabado teniendo, al suponer que se usarían para toda clase de enfermedades comunes) y categorizar los tumores según sus mutaciones (de nuevo, sobreestimando la minuciosidad que se ha llegado a tener de este conocimiento, al suponer que todos los tumores tendrían no solo mutaciones específicas descritas, si no también tratamientos basados en esas mutaciones).

Pero el proyecto también tuvo consecuencias indirectas tanto sobre la investigación en Genética como sobre la comunidad científica en general. En primer lugar, promovió el desarrollo de las técnicas de secuenciación y de las herramientas de bioinformática necesarias para manejar grandes cantidades de datos, facilitando la investigación en muchos otros campos al mejorar los instrumentos disponibles y haciendo los procesos de secuenciación más rápidos y baratos, y con ello más accesibles. En segundo lugar, llevó a la creación de múltiples bases de datos del genoma humano y sus variaciones, facilitando una producción de datos a gran escala y una divulgación de información que impulsó mucho el avance en el campo de la genética. Finalmente, sentó un precedente de colaboración entre grupos de investigación que propició el desarrollo de un ambiente internacional de trabajo en equipo e intercambio de información a nivel global que aún se mantiene hoy en día.

V.3- Principales aplicaciones en medicina

La investigación de enfermedades genéticas es una de las principales aplicaciones de la genómica en medicina. La combinación de iniciativas como el Proyecto genoma humano con las tecnologías de secuenciación ha permitido recoger grandes cantidades de datos sobre el ADN de la población que, mediante herramientas informáticas, se puede analizar para comprender mejor la relación de los genes con su función, descubrir variantes genéticas, determinar cómo interaccionan los genes con el ambiente, investigar el papel de las mutaciones en el desarrollo de patología y estudiar las bases genéticas de la enfermedad.

El uso de las técnicas de secuenciación como herramientas diagnósticas en la práctica clínica se está haciendo posible gracias a su veloz evolución, que hace que cada vez sean más rápidas y baratas y, por tanto, accesibles como pruebas de rutina. Permiten diferenciar tipos tumorales, determinar los agentes causantes de una infección (por ejemplo, determinar la presencia de ADN viral en una persona mediante amplificación con PCR) o diagnosticar malformaciones fetales a partir del ADN extraído de la sangre materna. Además pueden ayudar a predecir la aparición de una enfermedad en un paciente al indicar la presencia de genes predisponentes a ella.

También se emplean para estudiar la compatibilidad entre un donante y un receptor durante un trasplante, aumentando la eficacia del tratamiento al emparejar sujetos con HLA compatible, y para realizar estudios poblacionales mediante el análisis de los genomas de cientos de individuos, lo cual permite hacer numerosos tipos de ensayos clínicos y comprender mejor la incidencia y prevalencia de enfermedades en grupos poblacionales concretos. De hecho, los avances en las técnicas de secuenciación genética y la creación de bases de datos que recogen y analizan variaciones genéticas de forma masiva han influido bastante en la Genética de poblaciones, al permitir un análisis más amplio del genoma humano y su variación.

Por otro lado, estas técnicas han sido esenciales en el estudio de la variabilidad genética humana, cuyo conocimiento tiene aplicaciones como el estudio de los mecanismos moleculares y fisiopatológicos de la enfermedad, diseñar fármacos eficaces para el manejo de los cuadros al ofrecer dianas para ellos^{[35][36][37]}, identificar personas en medicina legal, hacer estudios familiares para comprender la heredabilidad de un rasgo, investigar los mecanismos de ligamiento genético para facilitar el mapeo de una secuencia, o determinar el perfil genético de un tumor, y con ello su pronóstico.

V.4- Variabilidad genética humana y medicina personalizada

Todos los individuos de una especie comparten un genoma cuyas características los identifican como pertenecientes a esa especie. Esa secuencia estándar es la que secuenció el Proyecto Genoma Humano. Sin embargo, al mismo tiempo, la secuencia puede presentar pequeños cambios estructurales entre sujetos (estos cambios suponen el 0,1% de la secuencia^[154]). Esta variabilidad genética es objeto especial de estudio, ya que se trata de un factor determinante en la aparición de distintos rasgos y enfermedades genéticas dentro de los componentes de la especie, tanto en individuos particulares como en sub-poblaciones enteras.

Cuando una variante de un gen es compartida por más de 1 % de la población se la denomina polimorfismo. La mayor parte de estas diferencias entre los genomas de los seres humanos se deben a polimorfismos de un solo nucleótido (polimorfismos de nucleótido único o SNP), a variaciones del número de veces que se repite una secuencia concreta en una región, o al número de copias de un gen que hay en su ADN.

Para estudiar esta variabilidad genética se ha creado una clase de estudio observacional llamado Estudio de asociación del genoma completo (GWAS) que compara las diferencias genómicas de cientos de individuos, usualmente centrándose en los SNP, para ver cómo se correlacionan con sus características y determinar a qué fenotipo (enfermedades, rasgos fisiológicos, características individuales) se asocia cada genotipo (*Figura 6*). Si una variante concreta aparece más en la población con un rasgo, se considera que está asociada a ese rasgo, y su presencia puede emplearse como un marcador genético que identifique las probabilidades de que una persona lo presente. Es importante recordar que los GWAS no

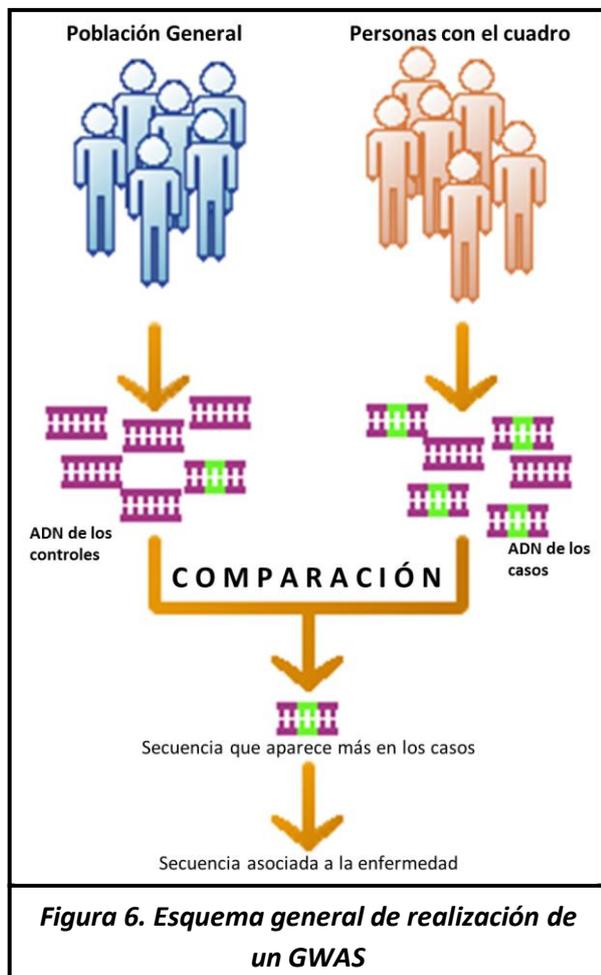


Figura 6. Esquema general de realización de un GWAS

determinan qué gen causa el rasgo^[112], si no que detectan secuencias que tienden a aparecer en los individuos que lo tienen (ya sea porque la propia variante contribuye a causar el rasgo o porque se encuentra estrechamente ligada a otro locus que interviene en la formación del fenotipo). Otra característica de esta clase de estudio es que necesita un tamaño de muestra muy grande para poder detectar un marcador fiable, lo cual ha fomentado la colaboración entre grupos de investigadores.

La principal consecuencia del conocimiento de la variabilidad genética en la práctica médica ha sido la creación de la medicina personalizada o de precisión, un modelo médico de reciente desarrollo que se basa en campos como la farmacogenómica y el análisis de datos para orientar la toma de decisiones. El diagnóstico, el manejo y la prevención de enfermedades pasan a ser procesos individuales y específicos basados en las características genómicas, moleculares y ambientales de cada paciente, en lugar de tratar todos los casos igual independientemente de las propiedades de cada persona. La idea de adaptar la práctica médica a las necesidades y características específicas de cada paciente no es nueva, pero los avances recientes en genética, análisis de datos y tecnología están permitiendo cada vez una aplicación más rutinaria de ese principio a la práctica clínica. Es muy posible que en el futuro se transforme en una parte muy importante de la medicina^[117].

En 1985 el estudio de la variabilidad genética para encontrar genes causantes de enfermedades llevó a la creación de la técnica de Huella genética, que compara las diferencias específicas entre secuencias para identificar individuos. En los años noventa se descubrió que las diferencias genéticas entre individuos no se debían solo a cambios de nucleótidos, sino también al número de copias de una secuencia que contenía cada gen.

La finalización del Proyecto Genoma Humano, expuso por un lado la variabilidad genómica de la especie, especialmente debida a SNP, y por otro simplificó la tarea de detectar diferencias entre genomas. A partir de ese momento el interés aumentó y se comenzaron a realizar estudios para localizar las variaciones genéticas y determinar cómo se asocian al desarrollo de enfermedades.

Uno de estos proyectos fue el Proyecto HapMap Internacional^[113], comenzado en 2002 y finalizado en 2005, que se centró en mapear los diversos SNP presentes en el ADN humano y todas sus posibles variantes en diversos grupos poblacionales. Su objetivo era comparar las secuencias genéticas de personas de diversas partes del mundo para determinar y clasificar las similitudes y diferencias entre ellas, agrupando la variabilidad de la especie en bloques de herencia o haplotipos que simplificaran su análisis. Con ello se buscaba facilitar la identificación de los genes implicados en enfermedades y las variantes que determinan la respuesta a fármacos. Este proyecto, junto al desarrollo de los Chips de ADN que facilitaron la comparación de muestras, influyó en el desarrollo de los GWAS al ofrecer fácil acceso a datos con los que comparar los resultados.

El primer GWAS se publicó en 2002, pero el diseño se popularizó en 2005 gracias a un estudio sobre degeneración macular asociada a la edad que demostró la presencia de SNPs en los ancianos con la enfermedad frente a los que no la tenían^[114]. La principal

crítica que ha recibido este modelo de estudio es que la información que aporta es incompleta porque informa sobre los loci genéticos pero no sobre su función^[86], lo cual resulta especialmente difícil de inferir en enfermedades que no dependen tanto de un solo gen como de una combinación de rasgos y circunstancias. Aun así, la capacidad de esta clase de análisis para señalar los lugares del genoma en los que residen locus asociados a fenotipos se ha demostrado en muchas ocasiones, y ha sido muy importante en la adquisición de conocimientos sobre la influencia de la genética en las enfermedades de herencia compleja.

Tras el proyecto HapMap, el estudio de la variabilidad genética humana fue abordado por el Proyecto 1000 Genomas, comenzado en 2007, que buscaba catalogar la variación genética entre humanos mediante la secuenciación y comparación de los genomas de más de 1000 individuos sanos, incluyendo personas de grupos poblacionales y razas que no se estudiaron en el Proyecto Genoma Humano y que, por tanto, presentaban variaciones que no se habían apreciado en la secuencia original^[115]. Esta iniciativa empleó las recientemente inventadas técnicas de secuenciación masiva para descubrir muchas mutaciones infrecuentes asociadas a enfermedades raras y determinar que variantes genéticas son realmente relevantes en medicina. Tras su finalización en 2012, el gobierno de Reino Unido comenzó un plan similar, el Proyecto 100.000 genomas, para ampliar aún más el conocimiento sobre la variabilidad genética humana^[155].

Los estudios y proyectos como el Proyecto 1000 Genomas han ayudado a comprender mejor esta variabilidad, han demostrado que todos los individuos somos portadores de variantes genéticas potencialmente deletéreas, y han incrementado la capacidad de detectar estas variaciones y de relacionarlas con el riesgo de incidencia de ciertas enfermedades, impulsando la investigación sobre las bases genéticas de las enfermedades. También han permitido valorar las diferencias entre las diversas poblaciones humanas, demostrando que la mayor incidencia de algunas enfermedades en unos grupos étnicos o geográficos se debe a que las variantes asociadas a la enfermedad aparecen más en esas poblaciones. Este conocimiento facilita el diagnóstico al indicar características de interés que orienten hacia una mayor incidencia en las poblaciones con predisposición a esos cuadros.

En 2007, un estudio demostró la relación entre el número de copias de una secuencia (Polimorfismos en el número de repeticiones en tándem o VNTR) y la expresión del gen al que pertenecen^[116], impulsando la investigación sobre los efectos de esta clase de variación en la salud humana. A raíz de este descubrimiento, que reveló la importancia de un elemento genético que hasta ese momento no se había estudiado mucho, se inició el Proyecto ENCODE (Enciclopedia de elementos del ADN) con la intención de identificar y catalogar todos los componentes del genoma humano, recogiendo la información en una base de datos para facilitar el estudio de la variación genética y cómo afecta a la expresión fenotípica de los genes. También en este año se publicó el mayor estudio GWAS hasta la fecha, que ayudó a descubrir muchos genes asociados a enfermedades comunes como la diabetes o la hipertensión.

En los últimos 10 años, el tamaño muestral analizado en los estudios GWAS se ha ido incrementando, pasando de miles de participantes a millones, para incrementar la

eficacia del estudio a la hora de detectar una relación significativa entre una mutación y una enfermedad. A consecuencia de ello, el paradigma de investigación ha cambiado, favoreciendo la colaboración entre laboratorios en lugar de la investigación aislada, lo cual ha llevado a la realización de grandes estudios internacionales^[109].

Los descubrimientos sobre la variabilidad genética de la especie humana han permitido avanzar en el conocimiento sobre la etiología y la fisiopatología de diversas enfermedades genéticas complejas. Por ejemplo, en la esclerosis múltiple ha permitido determinar que la variante genética HLA-DRB1*15:01 es el factor de riesgo genético más alto para el desarrollo de esta enfermedad^[156]. También se ha aplicado el estudio de la variabilidad a otras enfermedades, como la patología cardiovascular. Diversos estudios han identificado una relación entre algunas variantes genéticas y patología coronaria, al inducir el engrosamiento de las arterias o aumentar la vulnerabilidad de la placa de ateroma^[117], y otras patologías cardíacas como la fibrilación auricular o la taquicardia también se han asociado a determinadas variantes genéticas^[118]. Estos estudios también se han aplicado a diversos tipos de cáncer o incluso alteraciones gastro-intestinales debidas a la microbiota, como la obesidad^[119]. Esto se debe a que estas patologías tienen componente genético, por lo que los polimorfismos genéticos de una persona determinan en parte cómo afecta el entorno a su salud. En estos casos, determinar el componente genético es más difícil porque valorar la medida en la que el entorno influye en la expresión de los genes es complicado.

La medicina personalizada busca realizar un diagnóstico precoz y preciso mediante un mejor conocimiento de la variabilidad genética y el uso de pruebas diseñadas para detectar eficazmente la enfermedad, incluso antes de que se produzcan síntomas, y seleccionar el tratamiento posible. Por ejemplo, determinar la clase histológica de un tumor para aplicar la quimioterapia más apropiada, o estudiar los genes en agentes infecciosos que indican resistencias para elegir medicamentos eficaces contra ellos. También podría emplearse para predecir el riesgo de desarrollar enfermedades complejas según la susceptibilidad de un paciente a los procesos patológicos que la causan, lo cual permitiría crear programas personalizados para prevenir su desarrollo o tomar medidas para atenuar sus manifestaciones clínicas.

Uno de los campos que más se han beneficiado de este nuevo modelo es la oncología. La detección de genes predisponentes al desarrollo de ciertos tumores ya se está usando para comenzar tratamientos preventivos o paliativos de los síntomas, como en el caso del cáncer de ovario y mama hereditario asociado a los genes BRCA1 y BRCA2, y se están desarrollando muchos medicamentos basados en las particularidades genéticas de cada tumor para crear terapias dirigidas más eficaces, de forma que el tratamiento de cada paciente se base en las características de su tumor.

En este proceso tiene un papel importante la farmacogenética, un componente de la medicina personalizada que combina conocimientos de Genética, Bioquímica y Farmacología para estudiar las causas de la variabilidad en la respuesta a los medicamentos. Permite predecir la eficacia que tendrá un medicamento sobre la enfermedad de forma coste-efectiva, al elegir el fármaco que más efecto va a tener sobre una determinada enfermedad, reduce el riesgo de efectos adversos, al predecir que fármacos pueden causarlos en un paciente concreto, indica tanto la dosis

necesaria para lograr el efecto deseado como la dosis que resultará tóxica para el paciente, y permite determinar si un tratamiento será efectivo o insuficiente. Todo ello facilita el desarrollo de nuevos medicamentos, reduciendo además la inversión económica necesaria para ello al ofrecer dianas concretas y descubrir mecanismos sobre los que actuar, y permite la personalización del manejo de cada paciente en función a su secuencia genética. Por ejemplo, hay una variante genética que incapacita la función del Clopidogrel, un antiagregante plaquetario empleado para prevenir episodios arterioscleróticos; si se estudia el ADN de los pacientes para detectar esta variación se podría emplear otro fármaco en los pacientes que la presenten

VI. Presente de la Genética en medicina

La utilidad de la Genética es cada vez más clara en múltiples campos de la medicina, y esboza un futuro prometedor en el que la aplicación de elementos como la medicina personalizada, la farmacogenética, el diagnóstico molecular o la ingeniería genética sea rutinaria. Sin embargo, la aplicabilidad de este campo de la ciencia no se limita a posibilidades del futuro; actualmente hay muchas técnicas y procedimientos de la genómica integrados en la práctica médica y que ayudan a diario en la predicción, diagnóstico, tratamiento y estudio de enfermedades, de tal forma que es difícil para las nuevas generaciones de médicos imaginar cómo era la medicina antes de que se comenzaran a usar estos métodos.

VI.1- Aplicaciones en el diagnóstico

Una de las aplicaciones más importantes de la Genética en la clínica es la detección de mutaciones que influyen en el desarrollo de enfermedades. Esto permite no solo conocer el diagnóstico y la etiología de un cuadro clínico que se está desarrollando cuando se realiza el estudio, si no también predecir la aparición del proceso mientras el paciente está asintomático.

Hay muchos métodos que permiten analizar el ADN y, puesto que las alteraciones pueden consistir tanto en reorganizaciones grandes en la secuencia genética como en cambios puntuales en la cadena, las pruebas para detectar las mutaciones son variadas y específicas, diseñándose para diagnosticar enfermedades genéticas concretas. En este sentido las técnicas de diagnóstico actuales como la secuenciación masiva de ADN, con las cuales se puede detectar prácticamente cualquier mutación hoy en día, han supuesto un cambio importante en la práctica de la medicina al hacer más fácil y disponible el diagnóstico, no solo de enfermedades monogénicas, sino también de cuadros multifactoriales.

Uno de los principales usos en este campo es el cribado prenatal de enfermedades congénitas mediante técnicas de citogenética^[4] (cariotipos, hibridación genómica comparada), genética molecular (secuenciación de ADN, microarrays) y bioquímica. Algunas técnicas que han cambiado el diagnóstico prenatal han sido la PCR, que permite amplificar secuencias de ADN y detectar si el feto o el embrión presentan la variante alterada, el análisis del ADN fetal presente en el torrente sanguíneo materno o la hibridación *in situ* fluorescente, que permite detectar alteraciones en los

cromosomas^[128]. Algunas de las enfermedades pueden manifestarse desde la infancia con mayor o menor severidad dependiendo de si reciben o no tratamiento (hemocromatosis, galactosemia, fenilcetonuria), de forma que conocer el diagnóstico al nacimiento permite un manejo precoz del cuadro que puede mejorar mucho la calidad de vida del niño. En el caso de algunas cromosomopatías (síndrome de Down, síndrome de la X frágil, síndromes de los cromosomas sexuales como el de Turner o el de Klinefelter), el objetivo del diagnóstico prenatal es posibilitar la interrupción del embarazo. Otras enfermedades pueden aparecer más tarde (enfermedad polipomatosa familiar), de forma que el diagnóstico precoz permite prevenir los factores agravantes e, incluso, evitar el cuadro.

Un complemento del diagnóstico son las unidades de asesoramiento genético, que estudian el ADN de los pacientes para detectar la presencia de mutaciones causantes de enfermedad e informan a los portadores y a sus familias sobre sus características, el riesgo de que afecte a otros miembros de la familia o de transmitirlo a la descendencia y, si es posible, cómo prevenirla o tratarla.

Otra capacidad útil de las nuevas técnicas genéticas es el diagnóstico genético del cáncer. Analizar el perfil genético del tumor permite diferenciar las sub-categorías de algunas neoplasias, como la de colon o la de piel, según las mutaciones que presentan. El análisis de los marcadores moleculares de las células cancerosas permite determinar datos como la agresividad del tumor o la respuesta a una terapia determinada, lo cual a su vez permite seleccionar tratamientos más específicos que mejoran el pronóstico. También indica los factores de riesgo genéticos asociados a patología multifactorial, indicando el curso más probable de la enfermedad y permitiendo tomar medidas para evitarla.

Finalmente, la Genética ha permitido crear técnicas de diagnóstico molecular basadas en la detección del genoma del agente infeccioso (PCR, secuenciación genética), de forma que se puede detectar la presencia del patógeno en el organismo e identificar qué agente es, tanto en infecciones víricas (virus *Influenza*, virus H1N1) como bacterianas (*M. tuberculosis*, *Clamidia*). También ayuda a determinar la cepa específica e indicar los fármacos más eficaces contra él, evitando la aparición de resistencias^[129]. Estos métodos diagnósticos se usan cuando las técnicas convencionales son insuficientes, ya que son más caros y se necesita conocer al menos una parte de la secuencia genética del agente que queremos detectar.

VI.2- Aplicaciones en el tratamiento

Si bien la principal aplicación de la genética molecular es el diagnóstico, los avances en el desarrollo de nuevos tratamientos, la terapia génica y la farmacogenética, han significado un adelanto importante en el tratamiento de muchas enfermedades. En el nivel más básico, entender las causas genéticas de una enfermedad puede ayudar a comprender su patogenia molecular, lo cual a su vez puede servir de indicador para determinar el manejo más adecuado. Pero hay, además, diversas terapias basadas directamente en técnicas de genética.

En la actualidad, la genética molecular, y en particular la ingeniería genética, están permitiendo el desarrollo de terapias y medicamentos. Por ejemplo, la tecnología del

ADN recombinante ha sido esencial en el desarrollo de tratamientos para enfermedades metabólicas, al permitir la producción a gran escala y de forma segura de enzimas, hormonas y proteínas sintéticas esenciales en el manejo de enfermedades como la diabetes mellitus (la insulina fue el primer compuesto de esta clase en comercializarse), la hemofilia (factores VIII y IX de la coagulación), el retraso en el crecimiento (hormona del crecimiento), la anemia (eritropoyetina) o diversas disfunciones hematológicas (factores estimulantes de la formación de leucocitos).

También ha ayudado en el estudio de los marcadores genéticos para determinar la compatibilidad (histocompatibilidad) entre donante y receptor en un trasplante para evitar rechazos y complicaciones durante el mismo.

Otra aportación importante de la Genética ha sido la farmacogenética, que, como se ha explicado anteriormente (*Apartados V.3 y V.4*), estudia cómo influyen las características genéticas de un individuo en su respuesta a los medicamentos y en la efectividad de los fármacos. Esto ha permitido el desarrollo de herramientas y técnicas diagnósticas y terapéuticas.

Un ejemplo son los paneles prediseñados por empresas farmacéuticas para detectar los marcadores genéticos que aparecen en las variantes asociadas a la metabolización lenta de fármacos, que facilita la toxicidad y ralentiza la respuesta al tratamiento, o a la metabolización rápida, que reduce la efectividad del fármaco. Principalmente se estudian ciertas variantes del gen CYP, cuya enzima interviene en muchos de los procesos del metabolismo de fármacos^[130]. Este método de elección de fármacos se ha propuesto para administrar antidepresivos, analgésicos y anticoagulantes^[127].

Otro ejemplo es el estudio genético de las células tumorales para determinar que quimioterapia será más efectiva contra ellas y, por tanto, mejorará el pronóstico de la enfermedad. Este uso de la información genética para clasificar el tumor y seleccionar los medicamentos a los que será sensible puede evitar también la realización de terapias más agresivas^[131], lo cual mejora la calidad de vida. A menudo esta estrategia permite también desarrollar fármacos más precisos para el tratamiento de un cáncer concreto, reduciendo los costes y aumentando la eficacia.

Otra herramienta prometedora es la terapia génica, que consiste en introducir material genético en una célula de forma que se altere la expresión de un gen y se logre un efecto terapéutico deseado. Como ya se ha explicado (*Apartado IV.4*), la modificación puede realizarse para introducir un gen funcional en sustitución de uno defectuoso, interferir en la expresión de variantes genéticas causantes de enfermedad o modificar genéticamente las células afectadas en una enfermedad multifactorial.

Esta clase de tratamiento aún está en fase de investigación en la mayoría de sus aplicaciones, con múltiples estudios en todo el mundo dedicados a valorar sus posibles aplicaciones en medicina, pero numerosos ensayos clínicos han demostrado ya resultados positivos, llegando incluso a comercializarse, como ya se ha mencionado (*Apartado IV.4*). El principal avance en este campo ha sido el desarrollo de la terapia basada en linfocitos CAR-T para tratamiento de algunos tipos de cáncer. El uso de células madre hematopoyéticas en el manejo de leucemias y anemias mediante

trasplante de médula ósea ya es rutinario, y en 2017 se aprobó por primera vez el uso de terapia génica en linfocitos como herramienta en el tratamiento de neoplasias. Los CAR-T son linfocitos T modificados genéticamente para que expresen un receptor que los dirige contra antígenos de la superficie de las células tumorales. Actualmente se están usando en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda y del linfoma de Hodkin^[157].

La terapia génica podría emplearse en células somáticas, sin afectar a generaciones futuras (es el tratamiento probado hasta ahora, por ejemplo en la enfermedad de Lesh-Nyhan o en la inmunodeficiencia ADA), o sobre células de la línea germinal, en cuyo caso se transmitiría la alteración realizada a toda la descendencia del sujeto; esta forma de terapia génica está vetada actualmente por razones tecnológicas y éticas que se discutirán más adelante (*Sección VII*).

VI.3- Aplicaciones en investigación

La genética molecular es una herramienta muy útil a la hora de estudiar la patogenia de las enfermedades, porque conocer los genes que participan en su desarrollo y las mutaciones que causan o predisponen a su aparición permite determinar los mecanismos por los que se produce.

En Genética uno de los primeros objetivos a la hora de abordar el estudio de una enfermedad es determinar qué gen o genes la causan. La técnica de clonación funcional permitió aislar los genes asociados a múltiples enfermedades como la β -talasemia o la fenilcetonuria, mientras que la clonación posicional ayudó a identificar los genes de otros cuadros como la fibrosis quística o la enfermedad de Huntington. A su vez, los estudios de asociación genética (estudios de ligamiento, GWAS) y el desarrollo de programas informáticos y bases de datos para el análisis de información han ayudado a descubrir no solo infinidad de alelos de genes causantes de enfermedad, si no también marcadores genéticos que no se asocian etiológicamente al cuadro pero que permiten su diagnóstico.

Otra aplicación de la genética molecular en investigación es el diseño y creación de modelos, tanto celulares (principalmente con células madre) como animales, que asemejen más la patología humana. Tras secuenciar el genoma del ratón en 2002^[132] quedó claro que su similitud genética al ser humano lo convertía en un modelo adecuado para estudiar la enfermedad humana. En la actualidad se han perfeccionado las técnicas de manipulación genética para generar modelos de ratón que tengan alterada la expresión de los genes que se quieren estudiar, lo cual permite inducir el desarrollo de enfermedades o tumores para estudiar la relación entre genotipo y fenotipo y determinar los tratamientos adecuados, así como comprobar los efectos de nuevos productos farmacéuticos sobre las células.

VI.4- Medicina preventiva

En el campo de la medicina preventiva la Genética ha contribuido a mejorar el nivel de vida de la población en varios niveles. Por un lado, la tecnología del ADN recombinante se ha usado para crear varias vacunas que antes no se podían producir debido a la dificultad para cultivar los agentes patógenos, como la del virus de la hepatitis B. La técnica consiste en introducir genes productores de proteínas de superficie de los

agentes infecciosos en bacterias que sí podemos cultivar para emplearlos luego como elementos inmunizadores. Otra ventaja de esta técnica es que permite crear vacunas con menor riesgo de efectos secundarios y con potencial para inmunizar contra varias cepas de un agente infeccioso^[25].

Que la predisposición a sufrir una enfermedad genética dependa de nuestros genes significa que ese conocimiento puede detectarse desde el nacimiento o incluso antes. Esto convierte a la enfermedad genética en el objetivo ideal de la medicina preventiva. El asesoramiento genético de parejas con alto riesgo de tener descendencia afectada, mediante técnicas como el análisis de cariotipos o la detección de alelos recesivos de enfermedades monogénicas, ya es una práctica rutinaria. Además, el campo de la prevención genética está empezando a abarcar la predicción de enfermedades multifactoriales gracias a la información obtenida mediante los estudios de asociación y genómica. De forma general, conocer los rasgos genéticos que intervienen en el desarrollo de enfermedades multifactoriales permite revisar el manejo de estos cuadros y realizar un asesoramiento más útil para los individuos que forman parte de la población con el rasgo en cuestión, indicando estilos de vida o tratamientos preventivos que reduzcan su gravedad o incluso que prevengan su aparición.

El uso de tecnologías de secuenciación de nueva generación ha permitido determinar las frecuencias alélicas de rasgos genéticos en poblaciones determinadas, indicando qué enfermedades son más susceptibles de padecer los componentes de esos grupos y permitiendo el desarrollo de campañas de información poblacional centradas en la prevención y manejo de esos cuadros frente a otros que la población tenga menor tendencia a padecer.

VII. Debate ético

Desde su inclusión en los estudios de bioética en la década de los 70, la Genética ha suscitado debate tanto por falta de conocimiento de la población general como por el amplio espectro de legítimos problemas éticos que pueden surgir de su uso irresponsable.

La mayor parte de las cuestiones éticas actuales en Genética se centran en dos posibles aplicaciones de las nuevas tecnologías: la adquisición de conocimientos sobre nuestro genoma, lo que conlleva el riesgo de abusar de los datos obtenidos; y la posibilidad de modificarlo mediante la ingeniería genética y las técnicas de edición genética. Estos campos, aún en desarrollo, tienen gran potencial para mejorar la calidad de vida de la población, ya que en el futuro podrían permitir el diagnóstico precoz y tratamiento de enfermedades o incluso prevenir patología antes del nacimiento, pero que suelen acompañarse de cierta polémica.

Ante la expectación nacida de este debate ético es necesario educar a la población, crear una legislación que evite el mal uso de los nuevos conocimientos y tecnologías, y debatir de forma ordenada los dilemas morales y las consecuencias sociales de la investigación, pero evitando al mismo tiempo que el temor impida su desarrollo. Con este fin se han ido realizando conferencias, haciendo moratorias y creando programas

a medida que han ido surgiendo nuevas técnicas y métodos. Organizaciones como la UNESCO han creado documentos de referencia para definir los principios éticos que se deben respetar en la investigación genómica y regular la investigación y aplicación en medicina de los descubrimientos^[4]. Hay que destacar que el Proyecto Genoma Humano ya desde el principio incluyó diversas directrices y pautas que buscaban preservar los principios fundamentales de autonomía, privacidad, justicia y equidad que afectan a la dignidad humana, y una parte significativa de su presupuesto se dedicó a valorar las implicaciones éticas, legales y sociales del estudio^[98].

VII.1- Manipulación del genoma embrionario

La posibilidad de manipular el genoma embrionario y sus consecuencias éticas y sociales se han debatido desde la aparición de las tecnologías de manipulación genética. Ya en 1975, tras el descubrimiento del ADN recombinante, hubo una cumbre internacional en la que se debatió el uso de esta tecnología, y en 2015, ante la noticia del primer caso de modificación del genoma de embriones humanos, se realizó otra.

El carácter internacional de estas reflexiones es particularmente interesante porque, después de todo, el genoma pertenece a toda la humanidad, y su manipulación en las líneas embrionarias tiene el potencial de afectar a toda la especie. Esto significa que sería necesario establecer unas normas universales que regulen de forma homogénea la aplicación de esta tecnología en todo el planeta, lo cual ha demostrado no ser una tarea fácil debido a las diferencias políticas y culturales de los países que lo forman.

El primer tema que debería considerarse ante la posibilidad de manipular genéticamente la línea germinal humana son las impredecibles consecuencias de alterar la composición genética de nuestra especie y lo que esto podría significar para generaciones futuras.

Un tema muy polémico sobre la manipulación de la línea germinal es la posibilidad de modificar rasgos heredables no solo para cambiar los genes asociados a enfermedades, sino también para alterar características sin relación directa con la salud, como el aspecto físico o las cualidades mentales. El diagnóstico preimplantacional es una práctica que puede usarse para evitar el nacimiento de niños con enfermedades graves, pero también para seleccionar embriones en base a características meramente estéticas.

Esto crea dos formas de debate ético; por un lado, está el dilema de qué características debería permitirse alterar y quién tiene derecho a decidir esos cambios (algunos opinan que los niños tienen derecho a nacer sin enfermedades prevenibles^[98], otros que alterar el genoma en el feto es injusto al quitarle autonomía al niño e imponerle características decididas por los demás^[142]); por otro, alterar el genoma en esta etapa implica que las modificaciones serán transmitidas a todas las generaciones posteriores, lo cual podría tener consecuencias inesperadas tanto evolutiva como culturalmente.

Los debates éticos entorno a la modificación de la línea germinal comenzaron a aparecer en los 1990 con la propia tecnología y se han ido complicando con el desarrollo de las nuevas técnicas de manipulación. En esa época no se permitía la investigación clínica con técnicas de terapia génica para modificar la línea germinal.

Algunos autores opinaban que se acabaría prohibiendo por completo la modificación de la línea germinal, pero otros ya predecían que el debate dependería del desarrollo de la tecnología y su seguridad tanto o más que de los aspectos puramente éticos^[136].

En 2015, la investigación sobre el uso de CRISPR para modificar el genoma embrionario suscitó gran controversia^{[143][144]}, que se disparó en abril de ese año en relación a una serie de experimentos sobre el uso de la técnica realizados en embriones humanos inviables^[145]. El debate se centraba tanto en la falta de seguridad de la técnica, que aún no está lo suficientemente desarrollada como para emplearla en técnicas de reproducción debido al alto riesgo de producir mutaciones graves con efectos inesperados, como en las consecuencias si se logra llevar a cabo, y fomentó la discusión sobre si la técnica debería poder usarse en el ámbito clínico y sobre qué medidas serían necesarias para regular la investigación y el uso en medicina^[135]. Es particularmente destacable que en esta época diversas revistas científicas de gran prestigio se pusieron de acuerdo para publicar varias editoriales alertando sobre los riesgos de modificar la línea germinal humana^{[143][144]}, hecho que demuestra el gran impacto que este suceso tuvo sobre la comunidad científica.

El debate se reavivó en noviembre del año pasado, con otro experimento que acabó con el nacimiento de dos niñas con mosaicismos para el gen alterado, y que fue considerado éticamente irresponsable por la comunidad científica. El ensayo no solo fue criticado por la aplicación de una técnica aún poco dominada en experimentación con humanos, sino también por el modo irregular en que se anunció el experimento, publicándose en revistas sensacionalistas sin revisión por pares^[159], y por ser un caso de mejora genética, no de tratamiento de una enfermedad^[160].

En la actualidad, debido tanto a las limitaciones tecnológicas como a la falta de consenso social sobre la ética de su empleo, su uso está vetado en muchos países y severamente restringido a investigación en otros. Sin embargo, es posible que, si en el futuro el avance de las técnicas elimina los riesgos que hay actualmente debido a la falta de precisión, esto cambie. Algunas entidades han sugerido métodos de regulación como que se deban cumplir ciertos requisitos para permitir la manipulación.

El siguiente punto de interés que suele aparecer en la conversación sobre los conflictos éticos de la manipulación genética es el de su posible uso para "mejorar genéticamente" a los individuos y sus descendientes, y el riesgo que esto conlleva de incitar la aparición de movimientos de eugenesia.

Los avances en Genética de los últimos años hacen cada vez más probable la posibilidad de elegir o introducir rasgos hereditarios en los embriones de forma artificial para potenciar ciertas características (color de ojos, inteligencia, aspecto físico, altura) que no tengan nada que ver con el manejo terapéutico de una enfermedad, creando "bebés de diseño" como si se tratara de otro bien de consumo. Los problemas éticos inherentes en esta idea han sido motivo de inquietud tanto para la comunidad científica como para la población general^[146].

En este escenario, la complicación principal es determinar qué es prevención de patología y qué es mejora de características con tendencia eugenésica. Por ejemplo,

introducir en el embrión cambios genéticos para aumentar la esperanza de vida^[161]. Los principales factores determinantes serían qué rasgos consideramos esenciales para la salud, lo cual puede cambiar con el tiempo y en cada cultura, y quién tiene acceso a la tecnología para producir esos cambios, lo cual depende de su coste y podría agravar la desigualdad social.

Muchos países tienen legislación en contra de estas prácticas, pero la regulación dista mucho de ser perfecta y de realizarse en todos los países. En España el Comité de Bioética ha publicado una declaración en la que asevera que el uso de la terapia génica con intención de mejoramiento vulnera los preceptos de igualdad y dignidad de los seres humanos^[37]. La Ley de investigación biomédica 14/2007 limita el uso de técnicas de reproducción asistida y selección de embriones a casos en los que sean necesarias para evitar enfermedades severas sin tratamiento o que aparezcan entre los 30 y los 50 años o para fines terapéuticos, y siempre con estudio de cada caso de forma individual^[4].

También es posible, como ha pasado con otras técnicas y herramientas a lo largo de la historia de la medicina (por ejemplo el desarrollo de las técnicas de fertilización *in vitro*, que también causaron temor sobre las posibles aplicaciones para diseñar bebé), el temor inicial vaya desapareciendo conforme se vaya comprendiendo mejor la tecnología y se vayan describiendo sus usos beneficiosos^[141].

VII.2- Diagnóstico precoz y prevención de enfermedades

Gracias a las técnicas de secuenciación y análisis molecular, se pueden diagnosticar muchas enfermedades genéticas de forma fiable, pero su desarrollo ha suscitado la pregunta de cuándo deberían emplearse. Particularmente, se duda de que la aplicación de estas pruebas sea beneficiosa en casos de enfermedades sin tratamiento, cuadros cuya incidencia no depende de factores ambientales, procesos que se manifiestan en edades avanzadas de la vida y no se pueden prevenir (como la enfermedad de Huntington), o patología en la cual la genética indica probabilidad de incidencia, y en la que por tanto conocer el riesgo solo causará ansiedad en el paciente sin aportar nada a su salud (como en algunas mutaciones causantes de cáncer). Por ejemplo, el uso de pruebas genéticas para diagnosticar trastornos que no dependen solo de factores genéticos podría llevar a la incorrecta interpretación de los resultados, causando alarma innecesaria, ya que en muchas ocasiones la presencia de un marcador de enfermedad no indica que esta se vaya a desarrollar.

Otro problema del uso de estas técnicas para el diagnóstico precoz y para eliminar rasgos genéticos es la definición de enfermedad, qué se considera patología y qué se considera condición humana. El diagnóstico precoz podría llevar a elegir quién nace en base a sus características genéticas, lo cual se acerca peligrosamente al campo de la eugenesia.

Finalmente, otro empleo controvertido es su uso para seleccionar embriones compatibles con sus hermanos con el objetivo de obtener células sanguíneas de cordón umbilical, lo cual conlleva el riesgo de violar su dignidad como personas al emplearlos como parte del proceso para aplicar un tratamiento^[142].

VII.3- El problema de los Kits genéticos directos al consumidor y la interpretación de la información genética

Los Kits genéticos son unos test de popularidad creciente que analizan la presencia de variantes en el ADN del usuario para ofrecer una lectura de los riesgos que tiene de desarrollar ciertos cuadros. El principal problema de estas pruebas genéticas directas al consumidor es que los limitados conocimientos de la población general tienden a provocar confusión al interpretar los resultados, especialmente a la hora de comprender que la mayoría de datos genéticos indican probabilidad, no certeza, y que en muchas ocasiones los factores ambientales influyen tanto como los genéticos. Esta malinterpretación de la información puede acabar causando gran estrés emocional y ansiedad.

Todo esto destaca la cuestión ética de quién debería decidir cuándo usar un test genético y bajo qué circunstancias. Por un lado, el paciente tiene derecho a conocer la información relacionada con su salud, pero por otro una prueba sin beneficios claros y con altas probabilidades de ser malinterpretada, si no se acompaña del consejo médico adecuado, tiene más posibilidades de acabar perjudicando al paciente que de ayudarlo. Por ello sería importante formar a profesionales para que actúen como asesores genéticos, especialistas médicos encargados de interpretar la información recibida y explicársela al paciente de forma que la comprenda, corrigiendo las percepciones erróneas y solucionando dudas.

Otro problema que ha surgido debido a la popularidad de estos test es la tendencia de las empresas que los fabrican a crear kits para rasgos sin relevancia médica, aprovechando la falta de conocimiento de la población para fomentar la idea de que conocer estos datos es más útil de lo que lo es en realidad y amplificando los errores de concepto que se tienen sobre la información genética.

VII.4- Privacidad genética

A diferencia de otras pruebas complementarias, que dan información puntual sobre la salud de una persona, los estudios genéticos tienen un valor predictivo que puede asociarse a condiciones que el paciente acarreará toda su vida. Debido a ello se considera que la información genética es de naturaleza confidencial y debe manejarse siguiendo estrictas medidas de seguridad para salvaguardar los datos.

En este respecto, ha habido tanto autores que consideran que esta actitud es errónea, al tratarse de datos probabilísticos que no tienen realmente tanto valor como se les está dando (lo cual pasa por alto el derecho a la privacidad de las personas), como autores que consideran que se debería mantener fuera de los registros médicos hasta que se disponga de los sistemas adecuados para garantizar su seguridad (lo cual dificultaría la investigación y la adquisición de conocimientos).

También han surgido dudas sobre a quién pertenece la información obtenida del genoma, porque no solo permite conocer la identidad y las alteraciones de la salud de un individuo, sino también la de sus familiares, sin que estos lo sepan. Esto ha hecho surgir preguntas como si sería necesario pedir el consentimiento de todos los miembros de la familia para usar el genoma en estudios o para introducirlo en bases

de datos. De momento, la Ley de Investigación Biomédica de 2007 estipula que cuando la información obtenida pueda emplearse para evitar un daño o perjuicio en un familiar, se le pueden comunicar los datos pertinentes^[162].

Un asunto muy ligado al tema de la privacidad es el riesgo de discriminación de individuos en base a información presente en su ADN (lo que se conoce como discriminación genética). El temor a que compañías de seguros o contratantes empleen la información genética para seleccionar a personas que presenten factores genéticos favorables en detrimento de personas con predisposición a padecer ciertas enfermedades (una posibilidad que ya se ha visto con la aplicación de otras técnicas médicas por parte de las compañías de seguros para aceptar o no asegurados^[98]), surgió en la población general con el desarrollo de los primeros test genéticos^[136] y no ha remitido por completo desde entonces.

Para evitar este escenario, sería necesario un estricto reglamento legislativo que regule el empleo del conocimiento sobre el genoma humano mediante la creación de leyes contra la discriminación en función de factores genéticos, y algunos países ya las están aplicando. En el Convenio de Oviedo de 1997 se dispuso la prohibición de toda discriminación en base al patrimonio genético^[164], y en 2008 EEUU aprobó un acta contra la discriminación en base a la información genética^[163].

Por otro lado, también existe el riesgo de que aparezcan movimientos de discriminación de carácter social con estigmatización de individuos debido a su genética. Evitar que esto llegue a suceder es un reto de la sociedad en general, y los profesionales e investigadores de los campos de la salud, la biología molecular y la genómica deben educar a la población para evitar interpretaciones erróneas de la información genética tanto a nivel personal como social.

VII.5- Desigualdad social e infrarrepresentación en los estudios

Otro problema que se ha discutido es la posibilidad de que, como con otros servicios y cuidados médicos, el nivel económico determine quién tiene acceso a las técnicas de terapia génica, agravando las desigualdades sociales tanto entre personas como entre países, al limitar el acceso a las terapias y técnicas desarrolladas a partir de la genética.

Particularmente reseñable dentro de este punto es el problema de los grupos poblacionales infra-representados en los estudios genéticos. Desde la finalización del Proyecto genoma humano se ha señalado que el genoma humano de referencia no es representativo de todas las razas, ya que se realizó principalmente en la población caucásica. Esto significa que hay variantes genéticas y patrones de variabilidad asociadas a otros grupos poblacionales que no se recogen en las bases de datos genéticas o que están severamente infrarrepresentadas^[140]. Para intentar remediar esto, estudios posteriores, como el Proyecto 1000 genomas, han ampliado la muestra poblacional de forma que se represente mejor la variabilidad genética de la especie.

Por otro lado, al probar una terapia es mucho más eficiente valorar los genotipos presentes con mayor frecuencia en la población a la que se va a aplicar los resultados que probar el tratamiento con todas las variantes genéticas. Esto significa que podría haber enfermos con perfiles genéticos para los que no resulta rentable investigar

tratamientos, creando grupos genéticos sin tratamiento, similar a lo que sucede con algunas enfermedades raras en la actualidad.

VII.6- Patentes de genes

Otro de los retos éticos, además de legales, de la Genética surgidos en los últimos años es el tema de las patentes. Este asunto despertó gran controversia con la solicitud de Cohen y Boyer de patentar la técnica de ADN recombinante y de nuevo con el Proyecto genoma humano, cuando diversos grupos trataron de patentar secuencias genéticas totales o parciales para su posterior uso comercial.

Algunos estiman que el genoma humano es patrimonio de la humanidad y no debería permitirse su monopolio, mientras que otros opinan que, si bien el ADN en su forma natural en el interior de las células de un individuo no puede ser patentado, sí que podrían serlo los genes aislados (que no estarían en su forma natural) o modificados mediante técnicas de estudio como métodos de secuenciación o pruebas de diagnóstico genético.

Sería importante alcanzar un equilibrio entre las expectativas de innovación e investigación científica y los intereses económicos de las entidades privadas que investigan el genoma, que buscan compensar las inversiones realizadas, pero de momento no hay consenso sobre cómo hacerlo.

VIII. El futuro de la Genética en medicina

Aún queda mucho por descubrir sobre la información que guarda el genoma del ser humano y cómo aplicar los descubrimientos sobre genética a la medicina. El futuro de esta especialidad es un tema frecuente en el diálogo de la comunidad médica y científica, por ejemplo en nuestro entorno con las "Jornadas de Actualización Genética Humana", en las que se abordan los avances y técnicas descubiertas y cómo afectan al ejercicio de la medicina^[147], o el "Congreso Interdisciplinar en Genética Humana" del año pasado, en el que se debatió el presente y el futuro de la investigación en genética con la intención de estimular la colaboración con profesionales de otros campos y de concienciar a los profesionales de la salud sobre el importante papel que la Genética tiene en el presente y va a tener en el futuro de la medicina^[101].

Además, puesto que la mayoría de las nuevas aplicaciones y técnicas no se desarrollan para sustituir a los métodos actuales, sino para complementarlos, cada vez disponemos de más formas de estudiar los genes, lo cual abre nuevos campos en el estudio y empleo de los conocimientos adquiridos.

VIII.1- Predecir la predisposición a tener una condición genética desde el nacimiento

Una de las aplicaciones propuestas para la Genética es el uso de la información que da el genoma para predecir el riesgo de desarrollar una enfermedad y, por tanto, poder prevenirla o tratarla precozmente, mejorando el pronóstico. El mejor conocimiento de las características genéticas de una enfermedad y las variantes que predisponen a ella

podría facilitar la creación de test diagnósticos específicos para ella que permitan el cribado preventivo en la población.

Particularmente se ha sugerido estudiar los rasgos genéticos al nacimiento para interpretar cómo influirán en el desarrollo del recién nacido y predecir las características clínicas de la vida adulta. También se ha propuesto el uso de esta información para tratar las enfermedades genéticas antes del nacimiento, interviniendo en su desarrollo para paliar sus efectos en el feto.

Algunos autores consideran que la secuenciación del genoma al nacimiento acabará convirtiéndose en un procedimiento de rutina en la práctica médica que permitirá una mayor precisión a la hora de prescribir tratamientos y diagnosticar y prevenir enfermedades, a pesar de las complicadas implicaciones éticas que la práctica puede acarrear^[127].

VIII.2. Modificar el genoma de individuos o especies

Otra posibilidad muy a menudo debatida es el uso de las técnicas de edición genética para modificar el ADN de individuos o líneas celulares con el objetivo de eliminar mutaciones causantes de enfermedades multifactoriales, tanto de forma preventiva como curativa, mejorar la eficacia de los fármacos al introducir variantes genéticas que incrementen la sensibilidad a sus efectos, o incluso erradicar enfermedades monogénicas mediante manipulación del genoma en el embrión, llegando a eliminarlas por completo de la especie, si bien esta última sugerencia es particularmente controvertida.

Las nuevas tecnologías de manipulación genética permiten la modificación cada vez más precisa del genoma de forma que, si bien de momento la investigación se centra en introducir versiones sanas de genes no funcionales en el genoma, también se están desarrollando técnicas para inactivar o retirar copias defectuosas del genoma y para editar genes alterados.

Los problemas actuales de la terapia génica son la falta de conocimiento sobre los efectos de los genes y cómo interactúan entre sí, qué causa la aparición de efectos inesperados, y las implicaciones éticas mencionadas en el apartado anterior.

Algunos de los avances que se prevén en el futuro cercano son una mejor comprensión y conocimiento de las funciones y efectos de los genes, la identificación de nuevas proteínas Cas que aumenten la precisión con la que se manipula la secuencia genética, y el estudio de la seguridad y eficacia de las técnicas de manipulación como tratamiento experimental.

VIII.3- Detectar cualquier variación genética en cualquier célula

Se prevé que, conforme se perfeccionen las técnicas de secuenciación y su coste económico disminuya, mejorará la habilidad para descifrar la secuencia de regiones más complicadas y aumentará el número de genomas disponibles. Esto permitirá expandir nuestro conocimiento sobre el genoma y estudiar su variabilidad, sobre todo las variantes genéticas poco frecuentes, para definir con más precisión cómo esta influye en la salud y la enfermedad y ampliar el número de marcadores genéticos

asociados a enfermedades, lo cual facilitará la predicción y prevención de patología.

Interesan tanto las variaciones asociadas a enfermedades raras como las que contribuyen al desarrollo de enfermedades comunes, ya que estas últimas ayudan a comprender los mecanismos por los que se desarrolla la enfermedad. Sin embargo, en ambos casos hacen falta estudios con gran tamaño de muestra^[150], y suplir esta necesidad puede ser complicado, si bien es cierto que la creciente tendencia a realizar estudios internacionales en los que colaboran un alto número de equipos de investigación está permitiendo el estudio de cohortes cada vez más numerosas.

Otro avance en este campo será la ampliación de bases de datos, creando cada vez registros más detallados, de forma que se conozcan las secuencias asociadas a variantes de la normalidad, enfermedades, elementos reguladores y al fenómeno de metilación. Esto facilitará la investigación y el desarrollo de la medicina personalizada.

Además, las técnicas de secuenciación a gran escala pueden emplearse para analizar el ADN circulante en la sangre (como se hace ya en diagnóstico prenatal), lo cual facilita el estudio y seguimiento de enfermedades cuando el acceso directo a las células implicadas sea más complicado.

VIII.4- Medicina personalizada

Debido al creciente aumento de la rapidez y eficacia de las técnicas de secuenciación y la reducción de sus costes, es muy posible que se acabe empleando la secuenciación individual como herramienta para guiar la actitud terapéutica. En la medicina personalizada la información particular de cada individuo serviría para prevenir la enfermedad y para decidir el tratamiento. Se espera que esta forma de medicina, basada en las características genéticas del paciente en lugar de en guías generalizadas, sea más precisa y responda mejor a las necesidades de los enfermos. Además, tendría la ventaja de que, al secuenciarse el genoma entero, la información podría usarse a lo largo de la vida para decidir la actitud diagnóstica y terapéutica de cualquier cuadro que presente el paciente, convirtiéndola en una prueba efectiva y coste-eficiente.

Algunos países, como Reino Unido, ya están preparando el uso de las técnicas de secuenciación masiva en los servicios de atención médica para hacer esa selección personalizada del tratamiento y de las conductas preventivas según las características individuales de cada paciente^[37]. Añadir la información genética, recogida en bases de datos, a la historia clínica facilitaría la introducción de la genómica personalizada en la práctica rutinaria de la medicina, además de facilitar el descubrimiento de patrones de enfermedad que no se detectarían de otra forma.

La creación de las bases de datos necesarias para poder almacenar y analizar toda la información de forma eficiente y permitiendo su integración con los datos clínicos requerirá la colaboración con profesionales de los campos de la informática que puedan desarrollar la infraestructura necesaria y programar el software adecuado.

La farmacogenética también podría ayudar a recetar medicamentos de forma más personalizada. Por un lado, la posibilidad de diseñar fármacos con dianas terapéuticas específicas facilita el desarrollo de nuevos fármacos y asegura la eficacia de la terapia,

como ya se ha visto con los tratamientos dirigidos aprobados actualmente. Por otro, conocer las características de la persona y de la enfermedad permitirá seleccionar las dosis o la clase de fármaco de forma mucho más efectiva y evitando un mayor número de efectos adversos. Además, la información genómica puede facilitar el descubrimiento de nuevas aplicaciones terapéuticas de los fármacos ya existentes.

VIII.5- Investigación

Las nuevas técnicas de edición genética también facilitan el estudio de los procesos biológicos que tienen lugar en las células, lo cual es de gran utilidad en investigación biomédica. Por ejemplo, pueden emplearse para crear modelos genéticamente definidos modificando el material genético de animales de experimentación, en los que se podría estudiar el desarrollo de una enfermedad genética para estudiar los mecanismos por los que se produce. La creación de animales modificados genéticamente de forma específica es una forma de obtener modelos de enfermedad para el estudio de los cuadros y el desarrollo de tratamientos.

A nivel celular, los métodos de programación y desprogramación genética permiten obtener células madre y diferenciarlas luego para generar tejidos específicos, dando lugar a una nueva forma de medicina regenerativa usando terapia celular. Puede emplearse para el tratamiento de cuadros diversos, como la enfermedad cardiaca o la diabetes mellitus, pero un uso muy interesante que también se está investigando es el desarrollo de órganos creados a partir de las células del propio individuo, reduciendo el riesgo de rechazo y solucionando el problema de la falta de donantes^{[120][121]}.

Por otra parte, la generación de células madre pluripotentes permite estudiar la enfermedad de un paciente a partir de una muestra de sus tejidos. Esto podría facilitar el diagnóstico y el tratamiento de los cuadros al ofrecer una representación simplificada y personalizada del organismo. Esta misma tecnología puede usarse de forma más general en investigación para estudiar los efectos de una mutación en una muestra de tejido, y determinar así las consecuencias de su presencia en el ADN, e incluso qué tratamientos se podrían emplear contra ella.

IX. Conclusiones

A lo largo de su historia, la Genética ha ido evolucionando junto a la medicina, sirviendo como recurso en investigación para aportar información y ampliar el conocimiento sobre la salud y la enfermedad, ayudando en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades tanto genéticas como multifactoriales, y permitiendo el avance en las técnicas y herramientas de la práctica médica. Sus aportaciones han sido muy importantes y se espera que continúe teniendo gran impacto en el desarrollo de las ciencias de la salud.

En las últimas décadas, los avances en este campo han llevado a la implantación de nuevas técnicas que permiten el acceso a la información genética y su modificación, lo cual ha facilitado el desarrollo de nuevas formas de aplicación en la medicina, pero también ha implicado la aparición de diversas cuestiones éticas que debemos abordar

como sociedad.

Puesto que la Genética se adapta cada vez más a la medicina, y a su vez la práctica médica se apoya cada vez más en la genética, queda cada vez más clara la necesidad de crear una especialidad centrada en este campo, de forma que se disponga de profesionales con la preparación adecuada para interpretar la información obtenida de sus técnicas y que aseguren y faciliten el uso de las herramientas que ofrece, asegurando que se le saque el mayor partido posible a sus posibilidades en el ámbito médico.

X. Bibliografía

- [1] P. Octavio-Aguilar, J. Ramos-Frías. Aplicación de la genética de poblaciones en el ámbito de la medicina. *Biomédica*. 2014; 34(2): 171-9.
- [2] A. Ruffin. Report VI: Contemporary issues in medicine: Genetics education. Washington, D.C.: Association of American Medical Colleges; 2004.
- [3] F. S. Collins, V. A. McKusick. Implications of the Human Genome Project for Medical Science. *JAMA*. 2001; 285(5): 540-544.
- [4] T. Pàmols, F. J. Ramos, P. Lapunzina, I. Gozalo-Salellas, L. A. Pérez-Jurado, A. Pujol. A view on clinical genetics and genomics in Spain: of challenges and opportunities. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*. 2016; 4(4): 376-391.
- [5] Propuesta razonada para justificar la oportunidad de crear la especialidad de genética en el actual Sistema Sanitario del estado español, 2005; Propuesta de programa de formación de especialistas en genética clínica, 2005.
- [6] Proyecto de Real Decreto por el que se crean nuevos títulos de especialista y se actualiza el sistema formativo de determinadas especialidades en ciencias de la salud. Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Madrid, 2011.
- [7] Skirton et al. Tejada 2010. Proyecto de Real Decreto por el que se regula la incorporación de criterios de troncalidad en la formación, de determinadas especialidades en Ciencias de la Salud, La especialización troncal y las áreas de capacitación específica, Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, Madrid, 2010.
- [8] F. Weiling. Historical study: Johann Gregor Mendel 1822–1884. *American Journal of Medical Genetics*. 1991; 40 (1): 1–25.
- [9] I. Miko. Gregor Mendel and the Principles of Inheritance. *Nature Education*. 2008; 1(1):134
- [10] A. E. Garrod. The Incidence of Alcaptonuria: A Study in Chemical Individuality. *Lancet*. 1902; 2:1616-1620.
- [11] R. García. Negro, el color de la primera enfermedad genética descrita: la alcaptonuria [Internet]. Parque científico Universidad de Valencia: 23 Enero 2019 [consultado: 20 Noviembre 2018]. Disponible en: <https://revistageneticamedica.com/blog/tag/archibald-garrod/>
- [12] J. H. Park, M. H. Gail, C. R. Weinberg, R. J. Carroll, C. C. Chung, Z. Wang, et al. Distribution of allele frequencies and effect sizes and their interrelationships for common genetic susceptibility variants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:18026–31.
- [13] M. Gallego. La ciencia Genética: Breve historia [Internet]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; [consultado: 3 Diciembre 2018]. Disponible en: <http://bioinformatica.uab.es/genetica/curso/Historia.html>
- [14] A. Barahona, D. Piñero. Genética: La continuidad de la vida [Internet]. México: Instituto Latinoamericano de la Comunicación Educativa; 7 Abril 2012 [consultado: 3 Diciembre 2018]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/125/htm/genetica.htm>
- [15] J. L. Fresquet. Archibald Edward Garrod (1857-1936) [Internet]. Agosto de 2007 [consultado: 3 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.historiadelamedicina.org/garrod.html>
- [16] L. Bomba, K. Walter, N. Soranzo. The impact of rare and low-frequency genetic variants in common disease. *Genome Biology*. 2017; 18(1):77
- [17] National Institutes of Health, National Health, Heart, Lung, and Blood Institute. La anemia falciforme. Publicación 98-4086. Bethesda, MD: National Institutes of Health; 1998.
- [18] M. B. Gerstein, C. Bruce, J. S. Rozowsky, D. Zheng, J. Du, J. O. Korbel, O. Emanuelsson, Z. D. Zhang, S. Weissman, M. Synder. What is a gene, post-ENCODE? History and updated definition. *Genome Research*. 2007; 17(6):669-681.
- [19] R. M. Steinman, C. L. Moberg. A triple tribute to the experiment that transformed biology. *The Journal of Experimental Medicine*. 1994; 179(2):379-84
- [20] B. Espinet, M. Salido, F. Solé. Técnicas de citogenética molecular y sus aplicaciones [Internet]. Laboratorio de Citogenética y Biología Molecular, Hospital de Mar de Barcelona; 2005 [consultado: 20 Noviembre 2018]. Disponible en: www.seapcongresos.com/2005/Cursos/Curso_Largo_Patologia_Molecular/Citogenetica_molecular.PDF

- [21] J. A. Fraser Roberts. Some Practical Applications of Genetics in Medicina and Surgery. *Br Med J*. 1964; 2(5419):1217-1221.
- [22] E. Schröck, S. du Manoir, T. Veldman, B. Schoell, J. Wienberg, M. A. Ferguson-Smith, Y. Ning, D. H. Ledbetter, I. Ber-Am, D. Soenksen, Y. Garini, T. Ried. Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science*, 1996; 273(5274): 494.
- [23] A. S. Patel, A. L. Hawkins, C. A. Griffin. Cytogenetics and cancer. *Curr Opin Oncol*. 2000; 12:62-67.
- [24] A. Lindblom, A. Liljgren. tumor markers in malignancies. *Br Med J*. 2000; 320:424-427.
- [25] S. Zanlungo, M. Arrese, A. Rigotti. Medicina molecular: Presente y futuro. *Rev méd Chile* [Internet]. 1999 [consultado: 20 Diciembre 2018]; 127(8): 982-988. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98871999000800014&lng=en&nrm=iso&tIng=en
- [26] G. L. Rosano, E. A. Ceccarelli. Recombinant protein expression in escherichia coli: advances and challenges. *Front Microbiol*. 2014; 5:172.
- [27] C. Ortega, D. Prieto, C. abreu, P. Opezzo, A. Correa. Multi-Compartment and Multi-Host Vector Suite for Recombinant Protein Expression and Purification. *Front Microbiol*. 2018;9:1384.
- [28] L. Pray. Recombinant DNA Technology and Transgenic Animals. *Nature Education*. 2008; 1(1):51.
- [29] A. Raaje. Role of Recombinant DNA Technology in Medicine. *International Journal of Science and Research*. 2017; 6(6):792-793.
- [30] S. D. Cederbaum, G. C. Fareed, M. A. Lovett, L. J. Shapiro. Recombinant DNA in Medicine. *West J Med*. 1984; 141(2):210-222.
- [31] K. Itakura, T. Hirose, R. Crea, A. D. Riggs, H. L. Heyneker, F. Bolivar, et al. Expression in Escherichia coli of a chemically synthesized gene for the hormone somatostatin. *Science*. 1977;198:1056-1063.
- [32] I. S. Johnson. Human insulin from recombinant DNA technology. *Science*. 1983;219(4585):632-637.
- [33] S. Sahdev, S. K. Khattar, K. S. Saini. Production of active eukaryotic proteins through bacterial expression systems: a review of the existing biotechnology strategies. *Mol Cell Biochem*. 2008;307:249-264.
- [34] T. J. Fange, T. McDiarmid, L. Mackler, A. Zolotor. Clinical inquiries: Can recombinant growth hormone effectively treat idiopathic short stature?. *The Journal of Family Practice*. 2008; 57(9):611-612.
- [35] M. J. Manco-Johnson. Advances in the Care and Treatment of Children with Hemophilia. *Advances in Pediatrics*. 2010; 57(1):287-294.
- [36] Genetics Home Reference [Internet]. Bethesda: U.S National Library of Medicine, Abril 2019 [consultado: 20 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://ghr.nlm.nih.gov/>
- [37] A. Tolosa. Genética Médica News [Internet]. Valencia: Medigene Press [consultado: 21 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://revistageneticamedica.com/>
- [38] M. E. Gallo, A. K. Sarata, J. F. Sargent, T. Cowan. Advanced Gene Editing. Congressional Research Service. 2018.
- [39] J. D. Sander, J. K. Joung. CRISPR-Cas systems for genome editing, regulation and targeting. *Nat Biotechnol*. 2014;32(4):347-355.
- [40] E. M. Kennedy, B. R. Cullen. Bacterial CRISPR/Cas DNA endonucleases: A revolutionary technology that could dramatically impact viral research and treatment. *Virology*. 2015;0:213-220.
- [41] S. E. Luria, M. L. Human. A nonhereditary, host-induced variation of bacterial viruses. *Journal of Bacteriology*. 1952; 64(4):557-69.
- [42] P. Taylor. 2019: CRISPR and therapeutic gene editing comes of age [Internet]. 19 Febrero 2019 [consultado: 24 Febrero 2019]. Disponible en: http://www.pmlive.com/pharma_intelligence/2019_CRISPR_and_therapeutic_gene_editing_comes_of_age_1278495
- [43] M. Prabhune. CRISPR Clinical Trials: Will CRISPR Cure These Diseases? 30 Octubre 2018 [revisado: 17 Diciembre 2018, consultado: 24 Febrero 2019]. Disponible en: <https://www.synthego.com/blog/crispr-cure-diseases>.
- [44] D. Dussoix. W. Arber. Host specificity of DNA produced by Escherichia coli. II. Control over acceptance of DNA from infecting phage lambda. *Journal of Molecular Biology*. 1968; 5(1):37-49.
- [45] M. Meselson, R. Yuan. DNA restriction enzyme from E. coli. *Nature*. 1968;217(5134):1110-4.
- [46] S. B. Simmerman et al. Enzymatic joining of DNA strands: A novel reaction of diphosphopyridine nucleotide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1967; 57:1841-1848.
- [47] S. N. Cohen et al. Nonchromosomal antibiotic resistance in bacteria: Genetic transformation of Escherichia coli by R-factor DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1972; 69:2110-2114.
- [48] H. O. Smith, K. W. Wilcox. A restriction enzyme from Hemophilus influenzae. I. Purification and general properties. *Journal of Molecular Biology*. 1970;51(2):379-91.
- [49] H. O. Smith, T. J. Kelly. A restriction enzyme from Hemophilus influenzae. II. *Journal of Molecular Biology*. 1970;51(2)393-409.
- [50] D. A. Jackson et al. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: Circular SV40 DNA molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of Escherichia coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1972;69,2904-2909.
- [51] I. R. Lehman, M. J. Bessman, E. S. Simms, A. Kornberg. Enzymatic Synthesis of Deoxyribonucleic Acid. I. Preparation of Substrates and Partial Purification of an Enzyme from Escherichia coli. *J Biol Chem*. 1958;233(1):163-170.
- [52] A. Chien, D. B. Edgar, J. M. Trela. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile Thermus aquaticus. *J Bacteriol*. 1976;127(3):1550-1557.
- [53] R. Saiki, D. Gelfand, S. Stoffel, S. Scharf et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with

- a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988;239(4839):487-491.
- [54] K. B. Mullis et al. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 1986;51:263-273.
- [55] K. B. Mullis, F. A. Faloon. Specific Synthesis of DNA in vitro via a Polymerase-Catalyzed Chain Reaction. *Methods in Enzymology*. 1987;155:335-350.
- [56] S. Kwok et al. Identification of HIV sequences by using in vitro enzymatic amplification and oligomer cleavage detection. *J Virol*. 1987;61(5):1690-1694.
- [57] P. Mali, K. M. Esvelt, G. M. Church. Cas9 as a versatile tool for engineering biology. *Nature Methods*. 2013;10(10):957-963.
- [58] H. Ledford. CRISPR, the Disruptor. *Nature*. 2015;522(7554):20-24.
- [59] L. Cong, F. A. Ran, D. Cox, S. Lin, R. Barretto et al. Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems. *Science*. 2013;339(6121):819-823.
- [60] Y. Ishino, H. Shinagawa, K. Makino, M. Amemura, A. Nakata. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol*. 1987;169(12):5429-5433.
- [61] F. J. Mojica, C. Díez-Villaseñor, J. García-Martínez, E. Soria. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *Journal of Molecular Evolution*. 2005;60(2):174-182.
- [62] T. Gaj, C. A. Gersbach, C. F. Barbas. 3rd ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol*. 2013;31:397-405.
- [63] H. Ma, N. Marti-Gutierrez et al. Correction of a Pathogenic Gene Mutation in Human Embryos. *Nature*. 2017;548:413-419.
- [64] S. H. Park, C. M. Lee, H. Deshmukh, G. Bao. Therapeutic Crispr/Cas9 Genome Editing for Treating Sickle Cell Disease. *Blood*. 2016;128:4703.
- [65] L. Xu, H. Yang, Y. Gao, C. Wang. CRISPR/Cas9-Mediated CCR5 Ablation in Human Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Confers HIV-1 Resistance In Vivo. *Molecular Therapy*. 2017; 25(8):1782-1789.
- [66] W. Hu, R. Kaminski, F. Yang et al. RNA-directed gene editing specifically eradicates latent and prevents new HIV-1 infection. *Proc Natl Acad USA*. 2014;111:11461-11466.
- [67] E. M. Kennedy, A. V. Kornepati. M. goldstein et al. Inactivation of the human papillomavirus E6 or E7 gene in cervical carcinoma cells by using a bacterial CRISPR/Cas RNA-guided endonuclease. *J Virol*. 2014;88:11965-11972.
- [68] A. Hammond, R. Galizi, K. Kyrou. A CRISPR-Cas9 Gene Drive System Targeting Female Reproduction in the Malaria Mosquito Vector *Anopheles gambiae*. *Nature Biotechnology*. 2016;34:78-83.
- [69] H. Ledford. E. Callaway. "Gene Drive" Mosquitoes Engineered to Fight Malaria [Internet]. *Nature*. 23 Noviembre 2015 [consultado: 23 Diciembre 2018]. Disponible en: <http://www.nature.com/news/gene-drive-mosquitoes-engineered-to-fight-malaria-1.18858>.
- [70] R. Barrangou, J. A. Doudna. Applications of CRISPR Technologies in Research and Beyond. *Nature Biotechnology*. 2016;34(9):937.
- [71] O. Shalem, N. E. Sanjana, E. Hartenian et al. Genome-Scale CRISPR-Cas9 Knockout Screening in Human Cells. *Science*. 2014;343(6166):84-87.
- [72] M. Ruiz, B. Sangro. Terapia génica: ¿Qué es y para qué sirve? *Anales Sis San Navarra* [Internet]. 2005 [consultado: 3 Diciembre 2018];28(1):17-27. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272005000100002
- [73] T. Friedmann, R. Roblin. Gene therapy for human genetic disease?. *Science*. 1972;175(4025):949-955.
- [74] M. Cavazzana-Calvo, S. Hacein-Bey, G. de Saint Basile et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science*. 2000;288:669-672.
- [75] S. Hacein-Bey-Abina, C. Von Kalle, M. Schmidt et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science*. 2003;302:415-419.
- [76] R. A. Morgan, M. E. Dudley, J. R. Wunderlich et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science*. 2006;314(5796):126-129.
- [77] J. Grisham. Launch of Stem Cell Therapy Trial Offers Hope for Patients with Inherited Blood Disorder. *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* [Internet]. 16 Julio 2012 [consultado: 4 Enero 2019]. Disponible en: <https://www.mskcc.org/blog/launch-stem-cell-therapy-trial-offers-hope-patients-inherited-blood-disorder>
- [78] B. Hirscheler. Europe gives green light to first gene therapy for children. *Reuters*. 1 Abril 2016.
- [79] K. P. Tamirisa, D. Mukherjee. Gene therapy in cardiovascular diseases. *Curr gene Ther*. 2002;2:427-435.
- [80] Q. Yu, R. Shao, H. S. Qian, S. E. George, D. C. Rockey. DC. Gene transfer of the neuronal NO synthase isoform to cirrhotic rat liver ameliorates portal hypertension. *J Clin Invest*. 2000;105:741-748.
- [81] Breve guía de genómica [Internet]. USA: National Human Genome Research Institute. 21 Octubre 2015 [consultado: 9 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.genome.gov/27562845/breve-gua-de-genmica/>
- [82] F. H. Crick. On protein synthesis. *Symp Soc Exp Biol*. 1958;12:138-163.
- [83] J. Shendure et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*. 2017;550(7676):345-353.
- [84] E. Jay, R. Bambara, R. Padmanabhan, R. Wu. DNA sequence analysis: a general, simple and rapid method for sequencing large oligodeoxyribonucleotide fragments by mapping. *Nucleic Acids Res*. 1974;1(3):331-353.
- [85] F. S. Collins, V. A. McKusick. Implications of the Human Genome Project for Medical Science. *JAMA*. 2001;285(5):540-544.

- [86] A. Palotie, E. Widén, S. Ripatti. From genetic discovery to future personalized health research. *N Biotechnol.* 2013;30(3):291-295.
- [87] S. Santillán-Garzón, D. Diego-Álvarez, C. Buades et al. Diagnóstico molecular de enfermedades genéticas: del diagnóstico genético al diagnóstico genómico con la secuenciación masiva. *Revista Médica Clínica Las Condes.* 2015;26(4):458-469.
- [88] R. W. Holley, J. Apgar, G. A. Everett et al. Structure of a ribonucleic acid. *Science.* 1965;147(3664):1462-1465.
- [89] W. Min Jou, G. Haegeman, M. Ysebaert, W. Friers. Nucleotide sequence of the gene coding for the bacteriophage MS2 coat protein. *Nature.* 1972;237(5350):82-88.
- [90] F. Sanger, A. R. Coulson. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol.* 1975; 94(3):441-448.
- [91] F. Sanger, G. M. Air, B. G. Barrell et al. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA. *Nature.* 1977;265(5596):687-695.
- [92] F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977;74(12):5463-5467.
- [93] A. M. Maxam, W. Gilbert. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1977;74(2):560-564.
- [94] R. D. Fleischmann, M. D. Adams, O. White et al. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science.* 1995;269(5223):496-512.
- [95] Panorama general del Proyecto del genoma humano [Internet]. USA: National Human Genome Research Institute. 13 Octubre 2015 [revisión: 11 Mayo 2016; consultado: 9 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.genome.gov/27562859/panorama-general-del-proyecto-del-genoma-humano/>
- [96] F. S. Collins. Medical and Societal consequences of the Human Genome Project. *N Engl J Med.* 1999;341:28-37.
- [97] C. J. Epstein. Some ethical implications of The Human Genome Project. *Genetics in Medicine.* 2000;2(3):194-197.
- [98] T. Williams. The Human Genome Project and its ethical, legal and social implications [Internet]. 26 Julio 2000 [consultado: 29 Enero 2019]. Disponible en: <http://publications.gc.ca/Collection-R/LoPBdP/BP/prb0008-e.htm>
- [99] F. S. Collins, A. Patrinos, E. Jordan et al. New goals for the U.S. Human Genome Project: 1998-2003. *Science.* 1998;282:682-689.
- [100] US Department of Health and Human Services and Department of Energy. Understanding Our Genetic Inheritance: The Human Genome Project, The First Five Years, FY 1991-1995. Washington, DC: US Dept of Health and Human Services; 1990.
- [101] P. Romero. Presente y futuro de la investigación en Genética Humana y su aplicación clínica en un congreso sin precedentes. ANIS [Internet]. Madrid; 20 Febrero 2017 [consultado: 27 Enero 2019]. Disponible en: <http://anisalud.com/actualidad/notas-de-prensa-anis/1496-presente-y-futuro-de-la-investigacion-en-genetica-humana-y-su-aplicacion-clinica-en-un-congreso-sin-precedentes>
- [102] S. Torrades. Diversidad del genoma humano: los polimorfismos. Elsevier [Internet]. 2002[consultado: 20 Noviembre 2018];21(5):11-180. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-diversidad-del-genoma-humano-los-13031745>
- [103] Understanding what makes each of us different and what makes us the same [Internet]. USA: National Human Genome Research Institute. 6 Abril 2018 [consultado: 20 Noviembre 2018]. Disponible en: <https://www.genome.gov/27570931/april-06-human-genomic-variation/>
- [104] R. R. Haraksingh, M. P. Snyder. Impacts of Variation in the Human Genoma on Gene Regulation. *Journal of Molecular Biology.* 2013;425(21):3970-3977.
- [105] W. S. Bush, M. T. Oetjens, D. C. Crawford. Unravelling the human genome-phenome relationship using phenome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics.* 2016;17:129-145.
- [106] Estudios de asociación en todo el genoma [Internet]. USA: National Human Genome Research Institute. 21 Octubre 2015 [consultado: 9 Noviembre 2018]. Disponible en: <https://www.genome.gov/27562846/estudios-de-asociacion-en-todo-el-genoma/>
- [107] M. J. Li, P. Wang, X. Liu et al. GWASdb: a database for human genetic variants identified by genome-wide association studies. *Nucleic acids Research.* 2012;40(1):1047-1054.
- [108] K. Norrgard. Genetic variation and disease: GWAs. *Nature Education.* 2008;1(1):87.
- [109] L. Bombardieri, K. Walter, N. Soranzo. The impact of rare and low-frequency genetic variants in common disease. *Genome Biology.* 2017;18(1):1.
- [110] L. L. Ortiz, N. R. Tabak. Farmacogenética en la práctica clínica. *Revista Clínica Médica Las Condes.* 2012;23(5):616-621.
- [111] F. R. Vogenberg, C. I. Barash, M. Pursel. Personalized Medicine Part 1: Evolution and development into Theranostics. *Pharmacy and Therapeutics.* 2010;35(10):560-562/Personalized Medicine Part 2: Ethical, Legal and Regulatory Issues. *PT.* 2010;35(11):624-626.
- [112] T. A. Pearson, T. A. Manolio. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA.* 2008;299(11):1335-1344.
- [113] R. A. Gibbs, J. W. Belmont, P. Hardenbol et al. The International HapMap Project. *Nature.* 2003;426(6968):789-796.
- [114] R. J. Klein, C. Zeiss, E. Y. Chew et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science.* 2005;308(5720):385-389.
- [115] A. Auton, L. D. Brooks, R. M. Durbin et al. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 2015;526(7571):68-74.
- [116] B. E. Durrant, M. S. Forrest, M. Dunning et al. Relative impact of nucleotide and copy number

- variation on gene expression phenotypes. *Science*. 2007;315:848-853.
- [117] M. Zabalza, I. Subirana, C. Lluís-Ganella et al. Asociación entre variantes genéticas de enfermedad coronaria y aterosclerosis subclínica, estudio de asociación y metanálisis. *Revista Española de Cardiología*. 2015;68(10):869-877.
- [118] R. C. Bauer, I. M. Stylianou, D. J. Rader. Functional validation of new pathways in lipoprotein metabolism identified by human genetics. *Current Opinion in Lipidology*. 2011;22(2):123-128.
- [119] A. B. Hall, a. C. Tolonen, R. J. Xavier. Human genetic variation and the gut microbiome in disease. *Nature Reviews Genetics*. 2017;18:690-699.
- [120] NIH Stem Cell Information. [Internet]. Bethesda, MD: National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 2016 [consultado: 3 Enero 2019]. Disponible en: <https://stemcells.nih.gov/info/basics/7.htm>
- [121] Y. Brazier. What are stem cells, and what do they do?. *Medical News Today* [Internet]. 15 Octubre 2018 [consultado: 3 Enero 2019]; 15. Disponible en: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/323343.php>
- [122] J. A. Fraser Roberts. Some Practical applications of Genetics in Medicine and Surgery. *Br Med J*. 1964;2(5419):1217-1221.
- [123] O. A. Prior-González, E. Garza-González, H. A. Fuentes de la Fuente et al. Farmacogenética y su importancia clínica: hacia una terapia personalizada segura y eficiente. *Medicina Universitaria* [Internet]. 2011 [consultado: 3 Enero 2019];13(50):1-68. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-universitaria-304-articulo-farmacogenetica-su-importancia-clinica-hacia-X1665579611026775>
- [124] K. Opap, N. Mulder. Recent advances in predicting gene-disease associations. *F1000Res*. 2017;6:578.
- [125] Y. Brazier. What are stem cells, and what do they do? *Medical News Today* [Internet]. 15 Octubre 2018 [consultado: 3 Enero 2019]. Disponible en: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/323343.php>
- [126] Personal de la clínica Mayo. Stem cells: What they are and what they do [Internet]. Revisado: 2 Abril 2019 [consultado: 23 Diciembre 2019]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/bone-marrow-transplant/in-depth/stem-cells/art-20048117>
- [127] J. S. Mattick, M. A. Dziadek, B. N. Terrill et al. The impact of genomics on the future of medicine and health. *Med J Aust* [Internet]. 7 Julio 2014 [consultado: 3 Enero 2019];201(1):17-20. Disponible en: <https://www.mja.com.au/journal/2014/201/1/impact-genomics-future-medicine-and-health>
- [128] P. Braude, S. Pickering, F. Flinter, C. M. Ogilvie. Preimplantation genetic diagnosis. *Nat Rev Genet*. 2002;3:941-55.
- [129] Y. W. Tang, G. W. Procop, D. H. Persing. Molecular diagnostics of infectious diseases. *Clinical Chemistry*. 1997; 43(11):2021-2038.
- [130] A. M. Gomes, S. Winter, K. Klein et al. Pharmacogenomics of human liver cytochrome P450 oxidoreductase: multifactorial analysis and impact on microsomal drug oxidation. *Pharmacogenomics*. 2009;10(4):579-599.
- [131] J. S. Welch, P. Westervelt, L. Ding et al. Use of whole-genome sequencing to diagnose a cryptic fusion oncogene. *JAMA*. 2011;305:1577-1584.
- [132] Consortium MGS. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*. 2002;420:520-562.
- [133] S. Patra, A. A. Andrew. Human, Social and Environmental Impacts of Human Genetic Engineering. *J Biomedical Sci* [Internet]. 2015 [consultado: 4 Enero 2019];4:2. Disponible en: <http://www.jbiomedsc.com/biomedical-sciences/human-social-and-environmental-impacts-of-human-genetic-engineering.php?aid=7264>
- [134] B. Baker. The Ethics of Changing the Human Genome. *BioScience*. 2016; 66(4): 267-273.
- [135] N. Ramírez de Castro. Un experimento muestra los riesgos de manipular el genoma humano. *ABC* [Internet]. 25 Abril 2015 [consultado: 4 Enero 2019]. Disponible en: <https://www.abc.es/ciencia/20150425/abci-edicion-embriones-humanos-201504242050.html>
- [136] M. C. Vidal Casero. El Proyecto Genoma Humano. Sus ventajas, sus inconvenientes y sus problemas éticos. [Internet] 3 Febrero 2014 [consultado: 4 enero 2019]. Disponible en: <https://www.bioeticaweb.com/el-proyecto-genoma-humano-sus-ventajas-sus-inconvenientes-y-sus-problemas-acticos-dra-vidal-casero/>
- [137] R. Amelan. Grupo de expertos de la UNESCO pide la prohibición de "edición" del ADN humano para evitar inmoral manipulación de los rasgos hereditarios. *UNESCO* [Internet]. [consultado: 4 Enero 2019]. Disponible en: <https://es.unesco.org/news/grupo-expertos-unescopide-prohibicion-edicion-del-adn-humano-evitar-inmoral-manipulacion>
- [138] A. Tolosa. Se inicia un debate sobre los aspectos éticos de patentar una prueba de diagnóstico genético del autismo. *Genética Médica News* [Internet]. 4 Mayo 2018 [consultado: 3 Enero 2019]. Disponible en: <https://revistageneticamedica.com/2018/05/04/prueba-diagnostico-autismo/>
- [139] A. Tolosa. La malinterpretación de la información genética obtenida en pruebas genéticas directas al consumidor es frecuente. *Genética Médica News* [Internet]. 20 Abril 2018 [consultado: 3 Enero 2019]. Disponible en: <https://revistageneticamedica.com/2018/04/20/malinterpretacion-informacion-genetica>
- [140] E. Samper. Olvidados por la medicina personalizada. *El diario* [Internet]. 30 Agosto 2018 [consultado: 24 Febrero 2019]. Disponible en: https://www.eldiario.es/zonacritica/Olvidados-medicina-personalizada_6_809179091.html
- [141] F. Smith. How personalized medicine is transforming your health care. *National Geographic*. Enero 2019.

- [142] D. R. Alexander. Uses and abuses of genetic engineering. *Postgraduate Medical Journal* [Internet]. 2003 [consultado: 24 Febrero 2019];79(931). Disponible en: <https://pmj.bmj.com/content/79/931/249>
- [143] D. Baltimore, P. Berg, D. Botchan et al. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science*. 2015;348(6230):36-38.
- [144] E. Lanphier, F. Urnov, S. E. Haecker, M. Werner, J. Smolenski. Don't edit the human germ line. *Nature*. 2015;519(7544):410-411.
- [145] P. Liang, Y. Xu, X. Zhang et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein & Cell*. 2015;6(5):363-372.
- [146] R. Powell, A. Buchanan. Breaking evolution's chains: the prospect of deliberate genetic modification in humans. *The Journal of Medicine and Philosophy*. 2011;36(1):6-27.
- [147] XIII Jornada de actualización en genética Humana de la asociación española de Genética Humana [Internet]. Valencia; 13 Abril 2018 [consultado: 20 Febrero 2019]. Disponible en: <http://www.geyseco.es/genetica18/index.php?go=inicio>
- [148] R. van der Donk, S. Jansen, J. H. M. Schuurs-Hoeijmakers et al. Next-generation phenotyping using computer vision algorithms in rare genomic neurodevelopmental disorders. *Genet Med*. 2018.
- [149] C. Venter. Genetic sequencing is the future of medicine. *The Washington Post* [Internet]. 13 Diciembre 2017 [consultado: 20 Febrero 2019]. Disponible en: https://www.washingtonpost.com/news/the-worldpost/wp/2017/12/13/human-genome/?noredirect=on&utm_term=.bd4f686fd43a
- [150] A. Kiezun. Exome sequencing and the genetic basis of complex traits. *Nat Genet*. 2012;44:623-630.
- [151] Scitable. Inheritance of Traits by Offspring Follows Predictable Rules. *Nature Education* [Internet]. [consultado: 3 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/inheritance-of-traits-by-offspring-follows-predictable-6524925>
- [152] Scitable. Genomics Enables Scientists to Study Genetic Variability in Human Populations. *Nature Education* [Internet]. [consultado: 3 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/genomics-enables-scientists-to-study-genetic-variability-6526364>
- [153] E. A. Pastene. Tres etapas en la historia de la citogenética clínica. *Citogenética Humana*.
- [154] Riccardo Sabatini. How to read the genome and build a human being. *TED2016* [Internet]. [consultado: 17 Mayo 2019]. Disponible en: https://www.ted.com/talks/riccardo_sabatini_how_to_read_the_genome_and_build_a_human_being/transcript
- [155] DNA tests to revolutionise fight against cancer and help 100.000 NHS patients. UK Government [Internet] 10 Diciembre 2012 [consultado: 18 Mayo 2019] Disponible en: <https://www.gov.uk/government/news/dna-tests-to-revolutionise-fight-against-cancer-and-help-100000-nhs-patients>
- [156] Nuevas variantes genéticas vinculadas a un curso agresivo o benigno de la esclerosis múltiple. Fundación GAEM [Internet]. 18 Octubre 2018 [consultado: 23 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://fundaciongaem.org/variantes-geneticas-curso-em/>
- [157] A. Tolosa. La Genética Médica en 2017. *Genética Médica News* [Internet]. 27 Diciembre 2017 [consultado: 3 Enero 2019]. Disponible en: https://genotipia.com/genetica_medica_news/genetica-medica-en-2017/
- [158] G. J. Hanna, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes et al. Comparison of sequencing by hybridization and cycle sequencing for genotyping of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000;38(7):2715.
- [159] M. Vidal. Científicos chinos aseguran haber creado los primeros bebés modificados genéticamente. *El País* [Internet]. 26 Noviembre 2018 [consultado: 24 Febrero 2019]. Disponible en: https://elpais.com/elpais/2018/11/26/ciencia/1543224768_174686.html
- [160] Las dudas que genera el anuncio de un científico chino sobre la primera modificación genética de un bebé. *BBC News* [Internet]. 28 Noviembre 2018 [consultado: 24 Febrero 2019]. Disponible en: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-46372653>
- [161] Gene Therapy. *BioViva* [Internet]. [consultado: 21 Mayo 2019]. Disponible en: <https://biovivascience.com/gene-therapy/>
- [162] España. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. Boletín Oficial del Estado, 4 de julio de 2007, núm. 159, pp. 28826 a 28848.
- [163] President Bush Signs the Genetic Information Nondiscrimination Act of 2008. National Human Genome Research Institute [Internet] 21 Mayo 2007 [consultado: 21 Mayo 2019]. Disponible en: <https://www.genome.gov/27026050/president-bush-signs-the-genetic-information-nondiscrimination-act-of-2008>
- [164] España. Instrumento de Ratificación del Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina, hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997. Boletín Oficial del Estado, 20 octubre 1999, núm. 251, pp. 36825 a 36830.
- [165] F. Garrigues. Sanger: estrategia de secuenciación de Primera Generación. *Revista genética médica* [Internet]. 12 Mayo 2017 [consultado: 18 Mayo 2019]. Disponible en: <https://revistageneticamedica.com/blog/sanger/>
- [166] F. Garrigues. NGS: Secuenciación de Segunda Generación. *Revista genética médica* [Internet]. 23 Mayo 2017 [consultado: 18 Mayo 2019]. Disponible en: <https://revistageneticamedica.com/blog/ngs-secuenciacion/>
- [167] V. Karl et al. Next Generation Sequencing: From basic research to diagnostics. *Clinical Chemistry*. 2009;55(4):41-47

[168] J. Shendure, S. Balasubramanian, G. M. Church et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*. 2017; 550:345-353.

[169] J. F. Thompson, K. E. Steinmann. Single Molecule Sequencing with a HeliScope Genetic Analysis System. *Current protocols in molecular biology*. 2010; Chapter 7: Unit 7.10.

XI. Agradecimientos

Agradezco a la directora de este trabajo, la doctora Matxalen Llosa Blas, la orientación y ayuda recibida en la elaboración del mismo, y a mis padres su paciencia y apoyo.