

El impacto de la genómica en las enfermedades alérgicas

The impact of genomic on allergic diseases

Luis CARABALLO · CARTAGENA, COLOMBIA

El establecimiento de la genómica como una disciplina ha tenido gran influencia en diferentes campos de la ciencia y la medicina. Muchas de las actividades de la genética se han expandido gracias a la secuenciación del genoma humano, programa que ha sido crucial para la consolidación de la genómica y sus derivados más cercanos, la genómica funcional y la proteómica. A lo anterior le ha seguido la secuenciación del genoma de otros animales y varias plantas, abriendo las puertas a la genómica comparada y reforzando considerablemente las posibilidades industriales de la biotecnología, esta última también estimulada por el rápido desarrollo de las técnicas de clonación de organismos y manipulación de células madre.

El término genómica empezó a emplearse desde 1986 para indicar el estudio de la estructura, función y organización de los genomas. El concepto de genoma se ha utilizado desde 1920 para describir el juego completo de cromosomas y sus genes, aunque actualmente se refiere más específicamente al juego completo de moléculas de DNA diferentes que contiene la célula, es decir, las 24 del núcleo y una, la mitocondrial, del citoplasma. La genómica es producto del desarrollo conjunto de varias disciplinas como la genética molecular, la informática y la biotecnología, y como corresponde a los tiempos en que vivimos, ha despertado interés no sólo de la comunidad científica, sino de la ciudadanía en general, quien en algunos países se ha involucrado para supervisar sus implicaciones éticas y su influencia directa en nuestros estilos de vida. Lo anterior se debe a que la genómica hace posible identificar mutaciones a gran escala, lo que significa un viraje sustancial de la medicina curativa a la preventiva, adquiriendo mayor relevancia la individualización del tratamiento de las enfermedades. Sin embargo, el mayor impacto intelectual de la genómica tiene que ver con su estilo de análisis global del funcionamiento del genoma, lo que ha permitido llevar a la práctica cada vez con más frecuencia los planteamientos filosóficos del pensamiento sistémico.

Genómica y enfermedades complejas

La genética clínica, la farmacogenética y la epidemiología genética de las enfermedades complejas han sido tal vez las ramas relacionadas con la medicina más favorecidas por el desarrollo de la genómica. Las enfermedades complejas no

tienen un patrón de herencia mendeliana, debido a que no son monogénicas, en su patogénesis intervienen varios genes y un número indeterminado de factores ambientales. Las enfermedades alérgicas, y en especial el asma, son ejemplos típicos de enfermedades complejas. Su estudio ha estado limitado por múltiples aspectos teóricos y técnicos que, como expondremos en este resumen, empiezan a resolverse al aplicar los conceptos y el gran desarrollo tecnológico generados por la genómica.

El catálogo de genes del humano

Durante el proyecto de secuenciación del genoma humano, el cual se ha logrado casi en su totalidad, la bioinformática ha surgido paralelamente, a la vez como ayuda y como resultado de esta gran empresa científica, permitiendo analizar y organizar los resultados del proyecto con el fin de perfeccionar el catálogo de los genes y secuencias reguladoras localizados en los distintos cromosomas. De esta manera se han ampliado las posibilidades de selección de genes candidatos de susceptibilidad al asma, escogencia que generalmente se basa en la posible participación que pueda tener un gen, de acuerdo con su función conocida, en la patogénesis de la enfermedad. Obviamente, entre más y mejores opciones existan la selección se hará de manera más racional y podrá sustentarse adicionalmente en la existencia de los mismos genes en otros animales, donde es más factible su estudio experimental. Aunque todavía no se han identificado ni establecido la función de la totalidad de los 35.000 genes que se calcula tiene el humano, sin duda en los próximos años este vacío será llenado a partir de los esfuerzos colaborativos de la comunidad científica.

La identificación del gran polimorfismo del genoma humano

Las variaciones polimórficas han sido siempre de gran utilidad en genética de poblaciones, epidemiología genética y genética clínica. Entre los polimorfismos más conocidos se encuentran los microsatélites (*Short Tandem Repeat Polymorphism*, *STR*), conocidos corrientemente por su uti-

lidad en identificación humana y pruebas de paternidad. Los STR han sido una herramienta fundamental para hacer estudios de ligamiento genético en asma y otras enfermedades complejas, mediante rastreos genómicos que incluyen familias afectadas y un gran número de estos marcadores distribuidos por todo el genoma. La identificación de nuevos STR ha mejorado el poder discriminatorio de esos estudios y actualmente se han detectado más de 20 regiones cromosómicas ligadas al asma, las cuales se están explorando con mayor resolución para identificar genes que participen confiriendo susceptibilidad o resistencia a adquirir la enfermedad.

La importancia de la variación, el caso de los SNPs

La secuenciación del genoma ha permitido ampliar el catálogo de otros polimorfismos, especialmente los SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Estas son las variaciones más comunes del genoma y surgen por cambios en un solo nucleótido y en consecuencia son bialélicas, lo que quiere decir que son menos polimórficas que los STR, pero su utilidad reside en que son muy abundantes y permitirán hacer rastreos genómicos para estudios de ligamiento o de asociación con más exactitud que la obtenida con los STR. En el genoma humano se han identificado cerca de 7 millones de SNP y se calcula que, en promedio, se puede encontrar uno por cada 500 a 1.000 pares de bases.

La mayoría de estos SNP se encuentran en regiones no codificadoras, ya que sólo el 2% del genoma corresponde a genes. Sin embargo, su análisis ha permitido descubrir que el genoma tiene haplotipos de SNP, es decir, segmentos de DNA que contienen un mismo patrón de alelos de SNP, lo que hace que se hereden conjuntamente. Estos haplotipos pueden ser identificados por un solo SNP característico de dicho haplotipo (tag-SNP). También se han identificado bloques de haplotipos de SNP, los cuales son más extensos y contienen varios haplotipos característicos.

Los SNP y haplotipos de SNP han sido de gran utilidad para identificar polimorfismos asociados a asma o a la respuesta al tratamiento con medicamentos antiasmáticos, sin embargo, el recién iniciado proyecto HapMap, destinado a identificar y catalogar un número de haplotipos de SNP que sea útil para análisis genéticos a gran escala, dotará a los investigadores de mejores herramientas para identificar, con mayor seguridad, los genes predisponentes al asma. Por ejemplo, hasta hace poco los estudios de ligamiento basados en rastreos genómicos empleaban entre 300 y 700 STR, pero ya se empiezan a hacer esos mismos rastreos empleando "chips" genéticos que identifican hasta 15.000 SNP simultáneamente, lo que ha demostrado ser más eficiente y exacto que el trabajo con STR.

Los *chips* genéticos son micro arreglos (*microarrays*) de pequeños segmentos de DNA (oligonucleótidos) representativos de millares de SNP. La muestra de DNA que se desea tipificar se procesa, se marca con una molécula fluo-

rescente y se agrega al chip. Los fragmentos de la muestra que tengan una cadena complementaria al oligonucleótido que contiene el SNP, hibridarán a dicho SNP. De esta manera se identifican simultáneamente los millares de SNP que pueda poseer un individuo, proceso denominado genotipificación. La genotipificación a gran escala permitirá, además de perfeccionar los estudios de ligamiento como se mencionó antes, desarrollar estudios de asociación empleando rastreos genómicos, lo que constituye un gran adelanto en la investigación de la genética de las enfermedades complejas, ya que cambiará los métodos de la epidemiología genética en dos sentidos:

1. Tradicionalmente los estudios de asociación empleando casos y controles o tríos familiares se han hecho con los SNP de algunos genes candidatos en un número promedio de 400 muestras. Con la disponibilidad de *chips* de genotipificación se podrán investigar simultáneamente millares de SNP ubicados en regiones codificadoras y no codificadoras, con la posibilidad de incluir muchos más casos y controles, lo que fortalece el análisis estadístico y la confiabilidad de los resultados.
2. Por otro lado, las etapas que conforman los estudios genéticos de las enfermedades complejas generalmente han sido: rastreos genómicos empleando STR para identificar regiones genómicas ligadas, las cuales son analizadas más densamente hasta encontrar genes candidatos, cuyos polimorfismos (casi siempre SNP) se evalúan mediante estudios de asociación. Si a escala poblacional se encuentra una asociación significativa entre un SNP o un haplotipo y asma, el proceso continúa con los estudios funcionales para determinar el impacto de las variaciones en el fenotipo de asma o los intermedios, como niveles de IgE total o específica o el grado de hiperreactividad bronquial. Actualmente, con la disponibilidad de los chips genéticos, los rastreos pueden hacerse directamente en casos y controles empleando SNPs, lo que ahorra varios pasos en la estrategia tradicional de *positional cloning*.

Un análisis más realista de la expresión génica

Dado que las enfermedades complejas se consideran poligénicas, ha sido de mucha utilidad poder establecer patrones de expresión simultánea, es decir, en paralelo, de los genes supuestamente comprometidos en su patogénesis y de otros que previamente no se tenían como importantes en el desarrollo de la enfermedad. Con frecuencia este análisis se hace en animales y luego se verifica su replicación en humanos; de esta manera se han identificado varios genes candidatos de susceptibilidad o resistencia a asma y a otras enfermedades.

La expresión diferencial de genes se puede emplear también como guía diagnóstica y de clasificación de enfermedades, lo cual se ha aprovechado mejor en cancerología, sin embargo, en asma también se han detectado patrones de

expresión de genes que podrían ser utilizados como criterios diagnósticos y de clasificación de la enfermedad, la cual es ampliamente reconocida por su variabilidad fenotípica y en consecuencia considerada como un síndrome. Los estudios de expresión diferencial de genes también se hacen empleando *chips* que contienen millares de secuencias representativas de los diferentes genes conocidos. En este caso no se pretende genotipificar, sino hibridizar las cadenas complementarias de cDNA (derivadas del RNA de la persona que se estudia) con las cadenas representativas de cada gen. La intensidad de la señal de hibridización es proporcional a la cantidad de RNA en la muestra que se procesa, de manera que se puede comparar el grado de expresión entre un grupo de pacientes y sus controles sanos. Dado que los *chips* para expresión diferencial actualmente disponible no tienen la especificidad ideal, los genes que aparezcan sobre expresados o expresados por debajo de lo esperado deben confirmarse individualmente mediante RT-PCR.

Las posibilidades de predecir la respuesta terapéutica a los antiasmáticos

Aunque la farmacogenética no ha logrado obtener datos concluyentes sobre las posibles variaciones individuales que puedan afectar la utilidad de los medicamentos antiasmáticos, generalmente se acepta que esos genes estarían directamente relacionados con el blanco de esas drogas, como el receptor beta-adrenérgico, ALOX5, etc.; por esa razón la mayoría de los polimorfismos que se han descrito asociados con variaciones en la respuesta al tratamiento antiasmático pertenecen a esos genes. En general la farmacogenética ha mantenido el esquema una-droga un-gen, sin embargo, la farmacogenómica ha abierto la posibilidad de probar hipótesis que consideran que la respuesta al tratamiento con un medicamento es un rasgo poligénico, que involucra genes participando en muchas otras de las vías metabólicas influyentes en el procesamiento y acción de un medicamento. Este enfoque permitirá detectar variaciones no sólo en los genes sino en las vías metabólicas influidas por varios genes y las posibles interacciones entre esas vías, ya sea para potenciarse o para contrarrestar sus efectos. Los polimorfismos en estas redes podrían actuar conjuntamente para conformar un fenotipo, ya sea respondedor o resistente a la acción de un medicamento.

Un apoyo a la epigenética

La epigenética estudia aquellos fenómenos que producen modificaciones estables y heredables del genoma, sin cambiar la secuencia codificadora del DNA. Hasta donde se sabe, los mecanismos epigenéticos actúan principalmente en la cromatina, la estructura compleja de proteínas en donde se ubica la molécula de DNA que contiene cada cromosoma. Para que se inicie la transcripción de un gen deben producirse cambios en varios de los componentes de la cromatina, lo que lleva, entre otros efectos, a que los factores de transcripción puedan unirse al DNA. Como es de suponerse, los elementos que conforman la cromatina y aquellos que ayudan a su funcionamiento son productos de genes estructurales y reguladores distribuidos en el genoma, muchos de ellos todavía desconocidos, pero con mejores posibilidades de ser identificados a partir del proyecto de secuenciación y análisis del genoma. Si bien los mecanismos epigenéticos han sido reconocidos durante muchos años por la genética clásica, sus detalles moleculares, así como su participación en la fisiología del genoma, apenas comienzan a descifrarse. Recientemente se han publicado muchos estudios sobre la importancia de estos procesos epigenéticos en la generación de la respuesta inmunológica y en especial de la Th2, responsable en parte de la inflamación bronquial en el asma alérgica. La evidencia obtenida sugiere la posibilidad de que durante el desarrollo del asma participen mecanismos epigenéticos inducidos por factores ambientales sobre el genoma de los padres y transmitidos a los hijos, haciéndolos susceptibles o resistentes a la enfermedad.

El impacto teórico de la genómica

La idea de un catálogo completo de todos los genes y el resto de secuencias que participan en el funcionamiento de nuestro genoma ha sido comparada por algunos como una herramienta similar a la tabla periódica de los elementos. Sin embargo, hay abundantes razones para pensar que el genoma funciona de manera dinámica, estableciendo redes complejas de interacciones, de las que podrían surgir procesos insospechados, cuyas alteraciones (y no la de los genes individuales) podrían ser las decisivas en la patogénesis de las enfermedades complejas. En ese sentido, la genómica está abriendo las puertas a nuevas hipótesis y estableciendo posibilidades reales de adoptar otros métodos (distintos al reduccionista) para analizar los problemas biológicos.