

Perfil genómico de riesgo en la práctica clínica

Dres. Víctor Raggio^{*†}, Leda Roche[†]

Resumen

En los últimos diez años se ha visto un aumento exponencial tanto de los conocimientos en genética médica como en la capacidad de analizar el genoma humano. En los próximos años es probable que estas tendencias continúen, haciendo necesaria la incorporación de estas herramientas en la práctica médica diaria. En estos momentos asistimos a los primeros intentos serios de aplicación de la genómica humana a la atención de la salud. El conocimiento de las bases genéticas, y las interacciones a nivel molecular que llevan a las enfermedades humanas, tiene potencialidades enormes para mejorar el diagnóstico, el pronóstico, el tratamiento y la prevención de las mismas, e implica el desafío de cómo interpretar esta información y cómo educar a los médicos para utilizarla. En este trabajo analizamos los últimos desarrollos, los beneficios y las limitaciones del análisis genómico en la clínica, las herramientas utilizadas para ello, esbozamos algunas tendencias y su extrapolación al futuro inmediato y, finalmente, analizamos la situación en nuestro medio.

Palabras clave: *BIOLOGÍA MOLECULAR.
GENOMA HUMANO.
GENÉTICA MÉDICA.*

Key words: *MOLECULAR BIOLOGY.
GENOME, HUMAN.
GENETICS, MEDICAL.*

* Departamento de Genética, Facultad de Medicina. Universidad de la República. Uruguay.

† Área Genética Molecular, Comisión Honoraria para la Salud Cardiovascular (CHSCV). Uruguay.

Correspondencia: Dr. Víctor Raggio
Departamento de Genética, Facultad de Medicina. Gral. Flores 2125
Montevideo 11800, Uruguay

Correo electrónico: vraggio@fmed.edu.uy

Recibido: 9/3/09.

Aceptado: 13/4/09.

Introducción

El eje central de la investigación en genómica humana es la determinación de las causas genéticas de las afecciones humanas y convertir ese conocimiento en herramientas útiles en la práctica clínica^(1,2).

En las últimas dos décadas, al impulso del Proyecto Genoma Humano y desarrollos asociados, ha ocurrido un cambio de modelo en la genética médica que ha pasado de ocuparse exclusivamente de las “enfermedades genéticas”

(de baja frecuencia poblacional pero alto impacto y penetrancia en ciertas familias, aproximadamente 5% de las afecciones)⁽³⁾ a la “genética de las enfermedades” (de alta frecuencia poblacional y multifactoriales en su etiopatogenia). Podemos decir que pasamos del concepto de “enfermedad genética” al concepto de “información genómica” de importancia en medicina⁽⁴⁾.

En la década de 1990 se empiezan a publicar los primeros estudios de asociación de afecciones multifactoriales con variantes genéticas polimórficas⁽⁵⁾, si bien hay algunos reportes anteriores y ya clásicos⁽⁶⁾. Con el Proyecto Genoma Humano⁽⁷⁾ la discusión se establece en los ámbitos médicos y surge el término medicina genómica⁽⁸⁾. Los pacientes empiezan a preguntar a sus médicos sobre los impactos de la genética en ellos mismos y en sus grupos familiares, influidos por una creciente información en los medios masivos de comunicación. Es una nueva tendencia en la medicina mundial que se impone apoyada por sus propias potencialidades y al influjo de importantes empresas y centros académicos⁽⁹⁾.

En los últimos años se han identificado cientos de variantes genéticas asociadas a afecciones humanas multifactoriales: entre ellas la diabetes, la hipertensión, las dislipemias, la osteoporosis, la obesidad, el asma, el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, etcétera. De esta manera se va conociendo el componente genético específico y se van identificando las variantes que se deben considerar factores de riesgo para las mismas. En todos estos casos hablamos de variantes genéticas que implican susceptibilidad a (futuras) enfermedades, múltiples loci (poligenia) y gran relevancia de las interacciones genoma-ambiente (fármacos, tóxicos, microorganismos, agentes físicos, factores conductuales, etcétera)⁽¹⁰⁾.

En este trabajo incursionamos en los últimos desarrollos en este sentido, las potencialidades y limitaciones del análisis genómico en la clínica, las herramientas utilizadas para ello, esbozamos algunas tendencias y su extrapolación al futuro inmediato y, finalmente, analizamos la situación en nuestro medio.

Medicina genómica

Las publicaciones internacionales desde hace un buen tiempo⁽¹¹⁾ hablan de “lo que se viene” (sic) y también lo escuchamos en varios ámbitos nacionales, en referencia a algo que podríamos denominar “medicina genómica” y sin una especificación precisa de los cambios (revolucionarios) que puede significar o las posibles aplicaciones clínicas concretas.

Lo cierto es que las actuales y futuras generaciones de tecnologías de secuenciación del genoma completo, “genotipado” de variantes específicas y perfiles de expresión de genes, permitirán el descubrimiento de los deter-

minantes genéticos principales de las enfermedades humanas, lo que permitirá, a su vez, generar biomarcadores y nuevas terapéuticas para las afecciones de mayor impacto en salud pública.

En los últimos diez años estas tecnologías han madurado a una velocidad impensada tiempo atrás, permitiendo ensayos de alta calidad, gran escala, gran capacidad de procesamiento paralelo y alta relación señal/ruido, y tal vez lo más importante, bajando los costos de estos estudios varios órdenes de magnitud⁽¹²⁾.

Es impresionante el volumen de datos que se han generado, fundamentalmente a través de estudios tipo GWAS (Genome Wide Association Studies), los cuales analizan, como marcadores genéticos, miles de variantes del tipo SNP (polimorfismos de nucleótido único) (ver más adelante) buscando asociaciones entre una enfermedad específica y una configuración genómica determinada. Estos estudios se han realizado en prácticamente todas las afecciones humanas que tienen una frecuencia significativa. El descenso de los costos de genotipar SNPs y por lo tanto la capacidad tecnológica de incrementar la densidad de los mismos en los estudios, ha hecho que los GWAS se impusieran como metodología básica de identificación de genes (tabla 1). A modo de ejemplo: a través de GWAS, en el año 2007, se identificaron más genes relacionados con la diabetes que en todos los demás años anteriores juntos⁽¹³⁾. En los tres años pasados se publicaron varios GWAS con poblaciones de varios miles de casos y orientados a las principales afecciones humanas, así como metaanálisis basados en los mismos^(14,15).

Genomas individuales

Recientemente se secuenciaron (e hicieron públicos) los dos primeros genomas completos con nombre y apellido. Los de Craig Venter⁽¹⁶⁾ y James Watson⁽¹⁷⁾. Sobre fines del año pasado se publicaron más genomas individuales: el de un individuo asiático⁽¹⁸⁾ y otro africano⁽¹⁹⁾, demostrando la potencial utilidad de las tecnologías de secuenciación de próxima generación para la genómica personal. Asimismo se secuenció completo el genoma de una línea leucémica de una paciente comparándola con células normales de su piel, detectando mutaciones somáticas potencialmente vinculadas a la progresión tumoral⁽²⁰⁾.

De esta forma ingresamos en la era de la genómica individual y en la posibilidad cierta de que el genoma de un individuo se secuencie y analice completamente como parte de la evaluación de su anatomía y fisiología en una consulta médica^(21,22).

Varias empresas han tomado el desafío de secuenciar un genoma humano completo al costo de 1.000 dólares⁽²³⁾, con lo que la secuenciación genómica entraría en el rango de costo de los exámenes complementarios que actual-

Tabla 1. Evolución histórica de los métodos y tendencias de búsqueda de genes vinculados a patología humana. Modificado de: Nakamura Y, DNA variations in human and medical genetics: 25 years of my experience, Journal of Human Genetics 2009; 54:1-8.

| <i>Fechas (aproximadas)</i> | <i>Método predominante</i> | <i>Marcadores genéticos utilizados</i> |
|-----------------------------|--|--|
| 1983-1998 | “clonación posicional” para afecciones monogénicas y QTL’s | RFLP, VNTR, microsatélites |
| 1998-2002 | genes candidatos (algunos eran candidatos posicionales) | RFLP |
| 2003-2008 | GWAS | SNPs |
| 2008 - ? | más GWAS / metaanálisis de GWAS / secuenciación de genomas individuales completos / genotipado de gran escala de variantes seleccionadas (por interés médico) / selección de genes por patrones diferenciales de expresión con microarrays / ¿qué más? | SNPs / CNVs / indels / secuenciación de genomas completos / patrones de expresión de genes |

RFLP: restriction fragment length polymorphism (polimorfismo de largo de fragmentos de restricción); VNTR: variable number tandem repeats (repeticiones en tándem de número variable); SNPs: single nucleotide polymorphism (polimorfismos de nucleótido único); CNVs: copy number variants (variaciones en el número de copias), QTLs: quantitative trait loci (locus de rasgos cuantitativos); GWAS: genome wide association studies (estudios de asociación del genoma completo). Ver explicaciones en el texto

mente se utilizan⁽²⁴⁾. Parece ser sólo una cuestión de tiempo y de resolución de algunos problemas tecnológicos⁽²⁵⁾.

Para algunos la cuestión es si esta información genómica tiene valor médico y aplicación en la clínica⁽²⁶⁾. En realidad la cuestión es cómo dárselo. Cómo interpretar esta información, cómo transmitirla y cómo utilizarla en medidas preventivas y de impacto en la salud de los pacientes.

Como paso intermedio algunos plantean que es mejor centrarse en el análisis de variantes genéticas ya estudiadas y de comprobado efecto sobre afecciones humanas. La mayoría de la información obtenida de la secuenciación de un genoma humano completo sería (hoy) de escasa utilidad, pero la secuenciación de un grupo selecto de regiones genómicas de probada influencia sobre fenotipos humanos puede tener mucha utilidad clínica^(27,28).

En cualquier caso, el Personal Genome Project⁽²⁹⁾ ya está en desarrollo. En el mismo se busca secuenciar completos los genomas de voluntarios y generar información compartida (de uso público) de valor en genómica humana. Se planea llegar a 100.000 genomas secuenciados, empezando por las regiones codificantes (poco más de 1% de cada genoma). La meta es acelerar la investigación eliminando las restricciones asociadas con la privacidad de la información (tanto en secuencias, datos fenotípicos, como en tecnologías desarrolladas). La idea es que cuan-

ta más información esté disponible de uso libre, la investigación progresa más rápido. Esto podría propiciar una revolución en genómica similar a la producida en los años 80 con las computadoras personales⁽³⁰⁾. Los primeros resultados ya están disponibles (sobre los diez primeros voluntarios)⁽³¹⁾ y los medios periodísticos más importantes⁽³²⁾ (sin contar los blogs sobre ciencia) reportan cientos de noticias y comentarios al respecto.

Una cosa es indudable, la cantidad de datos que se generarán es impresionante, nunca antes disponible a la comunidad médica y de investigadores, y el trabajo en genética médica de las próximas décadas será cómo transformar todos esos datos en información y conocimiento clínicamente utilizable.

Polémica

A pesar de este brillo aparentemente cegador, recientemente se ha generado una intensa polémica en el primer mundo, dado que diversas compañías privadas comenzaron a ofrecer tests basados en la genética directamente al público (véase por ejemplo: www.23andme.com www.perlegen.com www.navigenetics.com www.DNATraits.com www.DNAdirect.com o www.decode.me.com). Los pioneros (2002) en este sentido habían sido empresas como www.sciona.com o www.genovations.com. El tema

también está instalado en nuestro medio.

Los servicios de estas empresas cuestan entre 400 y 1.000 dólares e incluyen prácticamente todas las variantes de importancia médica conocidas hoy. Analizan entre 500.000 y 1.000.000 de variantes del tipo SNP (algo similar al concepto expuesto anteriormente de analizar un conjunto de variantes de interés).

Periódicamente, y desde hace buen tiempo⁽³³⁻³⁵⁾, han salido en las principales revistas médicas comentarios (en general en contra o al menos con serios reparos) sobre el uso del perfil genómico como parte de la clínica médica preventiva y, especialmente, sobre su venta directa al público. El punto álgido llegó el año pasado cuando el estado de California prohibió la venta directa online al público⁽³⁶⁾. La discusión se centraba en si la información genómica analizada por estas compañías es medicina diagnóstica, y debe ser, por lo tanto, analizada bajo la supervisión de médicos, o, por el contrario, si son “servicios informativos” sobre la genética personal a los que todos tenemos derecho de manera irrestricta y sin “intermediarios”⁽³⁷⁾.

Sergey Brin, cofundador de Google y esposo de una de las cofundadoras de la empresa *23 and me*, se realizó el test y encontró que era portador de una mutación que le implica un riesgo de entre 20%-80% de desarrollar enfermedad de Parkinson a lo largo de su vida. Lejos de ocultar el hecho, y como forma de participar en la polémica, publicó sus resultados y opiniones en su blog personal⁽³⁸⁾.

Más allá de qué se debe considerar “información médica” y qué es “información personal”, el tema más importante desde el punto de vista médico es la utilidad de ciertos tests genéticos para mejorar la salud y prevenir la enfermedad y los potenciales efectos adversos de disponer de una información que es difícil de interpretar. Otro punto a tener en cuenta es que la mayoría de los profesionales de la salud no sabrían qué hacer con los resultados del informe o probablemente no cuenten con el tiempo necesario para analizarlo a fondo y ensayar medidas individualizadas con sus pacientes (y sus familias, eventualmente).

Perfil genómico: multifactorialidad, complejidad, variantes genéticas, modelos y más complejidad

La variación cuantitativa es ubicua en biología. La mayoría de los rasgos humanos no muestran una variación discreta simple sino que los individuos nos distinguimos por diferencias de grado. La mayor parte de la variación, para la mayoría de los caracteres y en la mayoría de las personas, cae dentro de un rango “normal” y la enfermedad hereditaria es un extremo dentro de una distribución normal (en el sentido estadístico) del fenotipo⁽³⁹⁾. La mayoría de las afecciones humanas también siguen esta distribución, al menos si las miramos desde el punto de vista de

los riesgos o las variaciones subyacentes en su etiología. En general (exceptuando las afecciones de herencia monogénica de baja frecuencia), los cambios en el ADN no llevan directamente a que se produzca una enfermedad, sino que afectan nodos de redes moleculares complejas que subyacen a estos fenotipos y que se ven influenciadas desde diversos puntos. De esta forma tenemos un sistema complejo, no lineal, donde el efecto de una variante genética muestra una gran dependencia del contexto (genético y ambiental) en que se expresa⁽⁴⁰⁾.

La hipótesis que mejor explica, a nivel poblacional, la determinación genética del riesgo de patologías (multifactoriales) complejas es la denominada: *common variant/weak effect/common disease* (variante común/efecto pequeño/enfermedad común)⁽⁴¹⁾. Es decir, qué variantes genéticas polimórficas (frecuentes en la población), de efectos pequeños y en general aditivos (pero también interactivos) sobre el fenotipo, son las que determinan el riesgo genético del desarrollo de la afección. Por lo tanto, la susceptibilidad genética en las enfermedades multifactoriales es probabilística, en vez de determinista, siendo posible que el efecto de las variantes genéticas varíe grandemente según el contexto ambiental.

En estos casos, las diferencias en cuanto a susceptibilidad son el resultado, no de mutaciones raras, sino del efecto de varios alelos, distribuidos en varios loci que son relativamente comunes en la población, que producen diferencias funcionales leves y graduales⁽⁴²⁾, y que existen también en individuos sin patología evidente (es decir forman parte de la variación genética normal de la población). No son ni necesarios ni suficientes para producir patología; no son “genes de determinada enfermedad” sino que pueden ser indicadores de susceptibilidad. En general estos alelos frecuentes son probablemente antiguos en el *pool* genético humano y aparecieron previamente a la separación de las actuales poblaciones humanas por lo que estarían presentes en todas (si bien con diferentes de frecuencias alélicas entre ellas)⁽⁴³⁾.

Desde el punto de vista molecular la mayoría de esta variabilidad humana está dada por los denominados SNPs. El resto está dado por variaciones del tipo: microsátélites, minisátélites (VNTR), polimorfismos inserción/delección (indels)⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾ y variaciones en el número de copias de regiones genómicas más extensas⁽⁴⁸⁾. Todas estas variaciones pueden ser subyacentes en la etiología tanto de “afecciones genéticas” como en el componente genético de susceptibilidad en patologías multifactoriales⁽⁴⁹⁾.

No todos están de acuerdo en que las variantes comunes sean la explicación única a las afecciones frecuentes. En la mayoría de estos estudios las variantes comunes explican sólo una parte de la agregación familiar, lo que se debería a que otras variantes menos frecuentes participan significativamente en la determinación de subtipos de cier-

tas enfermedades. Los GWAS detectan fundamentalmente aquellas variantes con una relativamente alta frecuencia poblacional (>5%) y efectos pequeños sobre el fenotipo. Por el contrario, los estudios familiares de ligamiento detectan variantes de efecto mayor y, en general, frecuencias poblacionales muy bajas. Para “disecar” completamente el componente genético de las afecciones comunes será necesario tener en cuenta las variantes comunes y variantes menos frecuentes pero de efecto marcado en determinados subgrupos de pacientes^(50,51). Son varias las descripciones de mutaciones raras (con una frecuencia poblacional de menos de 1%) que explican una parte de la aparición de afecciones comunes⁽⁵²⁻⁵⁵⁾.

Además se deben tener en cuenta otros tipos de variaciones genéticas (tabla 2) que afectan el riesgo o la susceptibilidad a determinadas afecciones y que complejizan aún más un “perfil genómico de riesgo”. La búsqueda de variantes genéticas en afecciones complejas se ha centrado hasta ahora en SNPs ubicados en regiones codifican-

tes o reguladoras, o ambas. En los últimos años han surgido estudios que vinculan ganancias o pérdidas de segmentos genómicos a la predisposición a diversas afecciones multifactoriales o la susceptibilidad a infecciones. Estas variaciones estructurales en nuestro genoma⁽⁵⁶⁾ (desde variaciones visibles a nivel citogenético a duplicaciones o deleciones de pocos Kb, denominadas CNVs o *copy number variation*) son mucho más frecuentes de lo que se pensaba⁽⁵⁷⁾ y pueden ser tan importantes como los SNPs en la determinación de nuestras características y fenotipos patológicos^(58,59).

Para tener una idea aproximada: si uno considera solamente los SNPs la similitud genética entre dos individuos normales es de 99,9%, pero si se consideran además las variantes estructurales esta similitud baja a 99,5% (enorme diferencia).

De todos modos, con la secuenciación de genomas completos a bajo costo todas estas variantes menos frecuentes se van a encontrar y se van incorporar, al menos

Tabla 2. La variabilidad presente en nuestro genoma (parte de ella)

SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms o Polimorfismos de Nucleótido Único)

Posiciones en el genoma en las cuales aparecen en la población dos o más nucleótidos alternativamente (cambio de una base por otra en el ADN).

~ 15 millones de sitios en el genoma humano.

~ 10 millones son frecuentes: presentes en más de 5% de la población.

~1 SNP / 1.000 bases en el genoma humano.

~ 3,8 millones SNPs catalogados en 270 individuos (International HapMap Consortium, 2007).

Cada persona tiene ~ 3-5 millones de SNPs heredados y ~30 SNPs de novo {frecuencia de mutación de 10-8 / bases / generación}.

Representan entre 90%-95% de todas las variaciones en el ADN humano.

El 93% de los genes tienen al menos 1 SNP.

El efecto funcional de un SNP es muy variado, uno solo puede provocar una afección genética gravísima.

La gran mayoría son neutros a los efectos de la selección natural (no provocan pérdida o ganancia de función) y se transmiten por generaciones, siendo frecuentes en la población. Estos pueden determinar diferencias funcionales leves en uno o más genes convirtiéndose en determinantes de patología multifactorial (como factores de predisposición).

CNVs (Copy Number Variants o Variaciones en el Número de Copias)

Variante estructural del genoma, donde una región de varios Kb o Mb aparece repetida una o varias veces, o delecionada, en distintos individuos.

~ 5%-25% del genoma humano tiene variaciones en el número de copias.

1.447 CNVs catalogados en 270 individuos, lo que representa 360 millones de bases o 12% del genoma.

Cada persona tiene ~ 1.500 CNVs heredados de un tamaño medio de ~ 20 kb, lo que representa unos 30 millones de bases / persona.

CNVs de novo: se desconoce la frecuencia.

Pueden provocar cambios en los niveles de expresión de uno o varios genes de una región genómica.

parcialmente, a perfiles riesgo individuales. Ya son varios los trabajos que demuestran la influencia de CNVs en afecciones multifactoriales humanas⁽⁶⁰⁻⁶³⁾. Los GWAS y los chips empiezan a considerar las CNVs⁽⁶⁴⁾ y las asociaciones con la patología humana empiezan a aparecer⁽⁶⁵⁾.

El Proyecto 1000 genomas⁽⁶⁶⁾ busca catalogar la variación presente en nuestro genoma mediante la secuenciación completa de una muestra representativa del mismo (a nivel poblacional). De esta forma se buscan identificar todas las formas de variabilidad del genoma humano.

Asimismo, se comienzan a analizar las influencias epigenéticas en el desarrollo de afecciones complejas⁽⁶⁷⁾. La investigación de punta en genética ha tratado de ir más allá de la secuencia de ADN, apuntando a la epigenética (metilación de ADN, modificaciones de las histonas, regulación genética mediada por ARN)⁽⁶⁸⁾, y más allá de las secuencias de ADN codificantes de proteínas, resaltando el papel de los ARN no traducidos en el control del genoma^(69,70) y la determinación de enfermedades⁽⁷¹⁾.

Adicionalmente se deben tener en cuenta las interacciones genoma-ambiente, las cuales, para la mayoría de las afecciones humanas, son los determinantes etiopatogénicos más importantes, así como con respecto a los rasgos normales del ser humano. La relevancia de la nutrición y otros determinantes ambientales comenzó a estudiarse en modelos animales, como el ratón, donde se determinó que la nutrición de la madre durante el embarazo podía afectar el color de pelo de las crías a través de un efecto epigenético (“herencia epigenética” y “epimutaciones”)^(72,73). Actualmente son múltiples las líneas de investigación en nutrigenómica^(74,75) que consideran las interacciones de nuestro genoma en la respuesta a nutrientes y xenobióticos en la determinación de afecciones humanas. Asimismo son varias las teorías que postulan al estrés intrauterino, a través de modificaciones epigenéticas, como origen de enfermedades metabólicas y de susceptibilidad a enfermedades de la vida adulta (“reprogramación fetal”)^(76,77). Este amplio campo de las modificaciones epigenéticas y las afecciones humanas^(78,79) se torna aún más complejo por el hecho de que las señales epigenéticas pueden ser modificadas por factores ambientales, transmitidas a las siguientes generaciones como tales⁽⁸⁰⁾ y se piensa que juegan un rol importante en la patogenia de enfermedades comunes^(81,82).

El conocimiento del papel de nuestros genomas en la determinación de enfermedades deberá ir incluyendo estos recientes descubrimientos.

Perfiles genómicos

Los primeros se han elaborado y comienzan a probarse en diferentes poblaciones y en su aplicabilidad clínica. Nótese que en esta sección todas las citas bibliográficas son

de los últimos cinco años.

Existen modelos teóricos que plantean la posibilidad de obtener un aceptable valor predictivo, en base al análisis de un grupo de variantes genéticas, considerando o no factores de riesgo ambientales concurrentes⁽⁸³⁻⁸⁵⁾. La limitación obvia de estos modelos es la dificultad en considerar las interacciones gene-ambiente (que en la mayoría de los casos van mucho más allá de los efectos aditivos). Estas interacciones son esperables a nivel teórico y se han comprobado en varios casos de extrema relevancia clínica; por ejemplo, entre los determinantes genéticos de la enfermedad coronaria y el tabaquismo⁽⁸⁶⁻⁸⁸⁾. La solución será refinar estos modelos incluyendo estas, a veces, complejísticas interacciones. Tarea para la próxima década, cuando menos.

En los últimos años se han realizado varios estudios que comienzan a analizar el efecto de un grupo de variantes genéticas combinadas (perfil genómico) en la determinación del riesgo de varias afecciones frecuentes. En todos los casos se demuestra, como era de esperar, que a medida que se suman alelos considerados individualmente de riesgo, la probabilidad de aparición de la afección aumenta (en algunos casos de forma aditiva y en otros de forma interactiva). Se han realizado estudios para hipertensión arterial^(89,90), Stroke^(91,92), enfermedad coronaria⁽⁹³⁻⁹⁶⁾, diabetes⁽⁹⁷⁻⁹⁹⁾, obesidad⁽¹⁰⁰⁾, dislipemias⁽¹⁰¹⁾ y asma⁽¹⁰²⁾, entre otros.

En cáncer también empiezan a aparecer algoritmos que consideran la acumulación de variantes genéticas de riesgo y la predicción de ciertos cánceres como, por ejemplo, de mama⁽¹⁰³⁾. Estos usos del conocimiento de un perfil genómico de riesgo en cáncer se suman a los de las mutaciones previamente conocidas (antes llamados oncogenes y genes supresores de tumores) favorecedoras de diversos tipos de cáncer, fundamentalmente en mama y colon⁽¹⁰⁴⁾.

En algunos casos, los riesgos estimados con estos algoritmos (en enfermedad cardiovascular aterosclerótica) alcanzan los de afecciones causadas por genes de efecto mayor y grandes determinantes de enfermedad cardiovascular en ciertas familias como la hipercolesterolemia familiar^(105,106). Por otro lado, las estimaciones de la magnitud de efecto sobre el riesgo de algunas variantes genéticas en combinación con el estado de fumador son mayores que las de factores establecidos como el elevado colesterol o la hipertensión⁽¹⁰⁷⁾. Por lo tanto, con una consideración de los factores (genéticos y ambientales) adecuados, en número suficiente para dar cuenta de la poligenia y complejidad de estos fenotipos, se pueden alcanzar estimaciones de riesgo de alto impacto en subgrupos de individuos (y familias).

En algunos casos, la enorme potencia de herramientas como los metaanálisis de GWAS (reuniendo casi 16.000

individuos y más de dos millones de SNPs determinados en cada uno de ellos) permiten encontrar las variantes genéticas que subyacen a rasgos como la estatura y establecer perfiles que predicen el incremento de estatura determinado por cada alelo⁽¹⁰⁸⁾. Todo esto en un solo estudio de este tipo. La otra cara de la moneda: estos estudios demuestran que el porcentaje de la varianza en la estatura que se determina con este grupo de genes es muy bajo, lo que refleja que se trata de un rasgo muy poligénico y altamente influido por variables ambientales. Es la contradicción entre la herramienta más potente que tenemos para la identificación de genes y la enorme complejidad de algunos rasgos humanos.

Posibles aplicaciones en la clínica

1. Detección de riesgos individuales (y familiares) para diversas afecciones. La identificación de las variantes genéticas que influyen el riesgo de una determinada enfermedad se pueden analizar a nivel del genoma de los pacientes y estimar esta “predisposición”.

La complejidad subyacente a estas afecciones hace que sea difícil capturar juntas todas estas variables. Al momento, la mejor herramienta predictiva que brinda una visión “de baja resolución” del riesgo genómico es la historia familiar, que además goza de otras ventajas como su bajo costo. Como desventaja tiene que lleva tiempo, a veces muchas entrevistas, y requiere en muchos casos de interpretaciones ulteriores para ser de valor⁽¹⁰⁹⁻¹¹⁰⁾. Es decir, no está adaptada a la forma de funcionamiento de la mayoría de nuestras consultas médicas.

Mucho se ha discutido, fundamentalmente en el campo de la genética cardiovascular, sobre si los tests genéticos agregan información útil a las mediciones habituales de factores de riesgo cardiovascular⁽¹¹¹⁾. En relación con esto debemos tener en cuenta que:

- i. Los factores de riesgo genéticos se pueden observar en cualquier momento (eventualmente desde el nacimiento).
- ii. Los datos habitualmente usados en las tablas “tradicionales” de riesgo son datos promedio para grandes poblaciones de individuos heterogéneos; deben existir subpoblaciones en los que el conocimiento del perfil genómico o incluso polimorfismos individuales agreguen mucha más capacidad de predicción.
- iii. Los efectos de los polimorfismos pueden ser amplificados (o disminuidos) en la medida que los individuos envejecen.
- iv. El verdadero valor del análisis genotípico aparecerá si se tiene en cuenta en el análisis las interacciones ambientales (dependencia del contexto) y combinaciones de polimorfismos (concepto de “perfil genómico de riesgo”).

- v. Se deben tener en cuenta los aspectos psicológicos de los “tests genómicos”: pueden ser perjudiciales (generando ansiedad o temores); también pueden ser beneficiosos y hacer propender a una mayor prevención a nivel familiar.
- vi. Hay que tener en cuenta aspectos preventivos familiares, y de selección, mediante la historia familiar fundamentalmente, de la población en la cual usar estos polimorfismos.
- vii. Los “factores de riesgo tradicionales” dan cuenta de aproximadamente 50% de la varianza del riesgo de enfermedad coronaria⁽¹¹²⁾. ¿Y el otro 50%? Se han identificado polimorfismos genéticos que tienen un efecto sobre el riesgo cardiovascular que no se debe a influencias sobre factores de riesgo tradicionales (gene ApoE, locus 9p21) (ref. 95).
- viii. El perfil genómico ayuda a considerar la heterogeneidad etiopatogénica de las afecciones humanas. Para muchas de estas afecciones comunes hay abundante evidencia que las bases moleculares de la susceptibilidad y su historia natural varían marcadamente entre los individuos. Las etiquetas diagnósticas que usamos son en muchos casos “vías finales” a las que se pueden llegar por muchos caminos (etiopatogénicos). Es de esperar que pacientes diferentes (genéticamente) se deban diagnosticar y tratar diferente.
- ix. Varios de los factores de riesgo genéticos para la enfermedad cardiovascular lo son además para otras afecciones, fundamentalmente neurodegenerativas^(113,114). Un perfil puede evaluar múltiples riesgos, permitiendo una visión holística y preventiva del individuo⁽¹¹⁵⁾.

2. Información de valor farmacogenético. La farmacogenética estudia cómo las diferencias genéticas entre los individuos influyen la variabilidad en la respuesta a los fármacos⁽¹¹⁶⁾. La farmacogenética permite una terapéutica “individualizada”, es decir, el tener en cuenta el perfil genético de cada paciente a la hora de prescribir fármacos para obtener el mayor beneficio terapéutico y minimizar los efectos adversos⁽¹¹⁷⁾.

También se puede pensar en el desarrollo de agentes terapéuticos especialmente indicados para determinadas subpoblaciones (en lo que se refiere a predisposiciones genéticas a enfermedades o respuesta a fármacos), eliminando así la contradicción inherente al uso de agentes farmacológicos uniformes para tratar a pacientes genéticamente diversos y patologías etiopatogénicamente heterogéneas. De este modo, las indicaciones para los fármacos estarían basadas más en mecanismos patogénicos compartidos que en presentaciones clínicas similares⁽¹¹⁸⁾.

De este conocimiento surge una serie de posibles aplicaciones a la práctica médica habitual, especialmente en áreas específicas donde se utilizan fármacos con rangos terapéuticos estrechos y efectos adversos potencialmente graves, como la warfarina⁽¹¹⁹⁻¹²¹⁾, o donde, dada la heterogeneidad etiopatogénica, es difícil lograr el tratamiento individualizado óptimo para cada caso⁽¹²²⁾.

3. Información de valor nutrigenético. De la misma forma, cada vez se disponen de más datos sobre cómo nuestro genoma nos hace responder diferente a intervenciones dietéticas preventivas. El campo de la nutrigenética estudia estas interacciones y su aplicación clínica^(123,124).

4. Información pronóstica. Una vez establecida una enfermedad, el curso o las complicaciones que en ella pueden aparecer es influido también por los genes. Esto está muy bien estudiado, por ejemplo, en diabetes en relación con el riesgo de progresión de la nefropatía^(125,126) y de enfermedad coronaria^(127,128).

5. Generación de nuevos conocimientos fisiopatológicos a nivel molecular. La empresa de determinar los genes y sus interacciones vinculados a las más importantes afecciones humanas es tan ambiciosa que es un fin en sí misma. La posibilidad de explorar y desarrollar nuevas metodologías y tecnologías, de desarrollar nuestros recursos de investigación genómica, de formación de recursos humanos, de interconexión entre grupos de científicos y clínicos, puede hacer avanzar el bienestar humano aun sin resultar en descubrimientos de valor médico inmediato.

En los hechos varios polimorfismos genéticos se utilizan en la clínica con un encare netamente preventivo y como parte rutinaria de la atención médica (tabla 3).

Es de esperar que la acumulación de datos a correlacionar (genotipo/fenotipo) favorezca una mayor investigación y el desarrollo de aplicaciones clínicas (ver más abajo). Todos los proyectos de investigación genómica de gran escala (tabla 4) destacan este aspecto⁽¹²⁹⁾. Por ejemplo, el conocimiento de que el gene del factor H del complemento es uno de los principales determinantes de la degeneración macular asociada al envejecimiento abre la puerta al tratamiento y prevención de esta afección con inhibidores del complemento⁽¹³⁰⁾.

Perspectivas y futuro

Haciendo un poco de futurismo: simplemente por acumulación y continuando las tendencias actuales, es altamente probable que: 1) se encuentren nuevas asociaciones de polimorfismos genéticos y enfermedades; 2) se aclaren

cada vez más las que ya se conocen y se definan los riesgos y efectos clínicos asociados a las mismas; 3) se analicen perfiles de varios polimorfismos frente a distintas situaciones clínicas; 4) se incorporen datos de distintas poblaciones humanas y distintos ambientes a estos análisis; 5) se desarrollen nuevos GWAS sobre la mayoría de las afecciones frecuentes; 6) se refinen las herramientas y se realicen metaanálisis sobre este vastísimo monto de datos acumulados (muchos de ellos de dominio público)^(131,132); 7) se generen nuevas herramientas alta capacidad de procesamiento^(133,134) para la identificación de genes vinculados a afecciones humanas y se estudien las implicancias fisiopatológicas de esas variantes⁽¹³⁵⁾; 8) se generen nuevas correlaciones genotipo-fenotipo a partir del uso de “endofenotipos” (o marcadores biológicos intermedios), es decir medidas objetivas que permiten clasificar a los pacientes con aparentemente la misma enfermedad en subgrupos de diferente evolución y respuesta⁽¹³⁶⁾; 9) los costos de los análisis genómicos sigan bajando⁽¹³⁷⁾.

Por lo tanto, es claro que la utilización de los perfiles genómicos va a aumentar. Probablemente, de forma análoga a como ha sucedido con la informática⁽²⁹⁾, el propio uso masivo generará más herramientas, grupos de trabajo interrelacionados, liberalización de la información, conocimiento masivo compartido en tiempo real, correlación de información genotípica y fenotípica, y se irán respondiendo las preguntas centrales que nos hacemos hoy, respecto de la utilidad clínica de estas herramientas, usándolas y trabajando con ellas.

Desde los comienzos del Proyecto Genoma Humano se vienen analizando las implicancias sociales, legales, éticas y psicológicas que se deberán tener en cuenta en la era de la genómica aplicada en medicina^(138,139). A nivel local⁽¹⁴⁰⁾ deberemos determinar cómo utilizar estas herramientas en nuestro medio y desarrollar experiencia en cómo comunicar a nuestros pacientes información médica sobre riesgos de enfermedad y prevención a partir de la información genómica. Deberemos incorporar la información genética como un componente más de la práctica clínica o, dicho de otra manera, deberemos considerar al genoma del paciente como parte de su “anatomía y fisiología”.

En Uruguay

La medicina genómica comenzó a aplicarse recientemente desde el Área Genética Molecular de la Comisión Honoraria para la Salud Cardiovascular (CHSCV)⁽¹⁴¹⁾, con un encare fundamentalmente preventivo dirigido a la identificación y estratificación de riesgo cardiovascular⁽¹⁴²⁾, y en el Departamento de Genética de la Facultad de Medicina⁽¹⁴³⁾, dirigido al diagnóstico y asesoramiento genético, fundamentalmente en neurogenética.

Tabla 3. Ejemplos de polimorfismos genéticos de uso clínico

| <i>Gene</i> | <i>Efecto</i> |
|--------------------------------------|---|
| Variantes farmacogenéticas | |
| CYP2C9 | Sensibilidad a la warfarina |
| VKORC1 | Sensibilidad a la warfarina |
| TPMP | Toxicidad azatioprina |
| UGT1A1 | Toxicidad irinotecan |
| SLOCO1B1 | Toxicidad (miopatía) estatinas |
| Riesgo de afecciones crónicas | |
| APOE | Enfermedad coronaria Enfermedad de Alzheimer |
| 9p21 | Enfermedad coronaria |
| ACE I/D | Enfermedad coronaria |
| HLA | Diabetes tipo 1 Afecciones autoinmunes |
| FTO | Obesidad |
| CFH | Degeneración macular asociada al envejecimiento |
| Riesgo de eventos agudos | |
| Factor V Leyden | Trombosis venosa |
| Protrombina | Trombosis venosa |
| MTHFR | Trombosis venosa |
| Infecciones | |
| CCR5 | Infección por HIV |

Tabla 4. Principales proyectos internacionales impulsores de la genómica humana

| |
|---|
| <p>Human Genome Project www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/home.shtml</p> |
| <p>International HapMap Project www.hapmap.org/</p> |
| <p>The ENCODE Project: ENCyclopedia Of DNA Elements www.genome.gov/10005107</p> |
| <p>Personal Genome Project www.personalgenomes.org</p> |
| <p>1000 Genomes - A Deep Catalog of Human Genetic Variation www.1000genomes.org</p> |

En el área de la oncogenética también ha habido importantes trabajos aplicados a la prevención: la Unidad de Oncogenética del Servicio de Oncología Clínica del Hospital de Clínicas^(144,145) y el Grupo Colaborativo Uruguayo: Investigación de Afecciones Oncológicas Hereditarias basado en el Hospital Militar^(146,147).

Más recientemente, algunas empresas comenzaron a ofrecer estos servicios.

La incorporación de estas herramientas implica su manejo por parte de la comunidad médica^(148,149). En nuestro medio (probablemente en otros también) la adecuación de los programas de estudio es mucho más lenta que los avances tecnológicos, por lo que estas tecnologías, desarrolladas fundamentalmente en los últimos 15 años, son escasamente manejadas por el grueso de los médicos en el país. Esta situación no es única de nuestro medio⁽¹⁵⁰⁾.

A modo de ejemplo en referencia a América Latina, México desarrolló recientemente un Instituto Nacional de Medicina Genómica⁽¹⁵¹⁾. En Uruguay tenemos una serie de circunstancias a favor que nos permitirían ser pioneros en la incorporación de este tipo de herramientas de forma adecuada a las posibilidades y necesidades del medio: 1) una buena oferta de cursos en el marco de la Universidad de la República (de bajo costo) sobre genética aplicada a la medicina y sobre genética básica, tanto presenciales como on-line⁽¹⁵²⁾; 2) una abundante bibliografía disponible de acceso fácil y gratuito; 3) una creciente formación de recursos humanos en genética (tanto básica como aplicada a diferentes áreas); 4) una buena capacidad de interacción entre clínicos y básicos, por vías tanto formales como informales (probablemente estas últimas sean las más importantes); 5) el trabajo de algunas entidades y empresas que como parte de sus servicios han desarrollado recursos informativos, educativos y de asesoramiento, disponibles para la comunidad médica⁽¹⁵³⁾.

Mucho queda por hacer. Los años siguientes serán determinantes y las tareas más importantes por delante no son de resolución meramente tecnológica sino que tienen que ver con el manejo de una herramienta potencialmente revolucionaria en medicina.

Summary

Over the last ten years knowledge on medical genetics and the ability to analyze the human genome have shown a steep block curve.

This tendency is likely to continue in the coming years, and thus require the introduction of these tools in the every day medical practice.

Today we witness the first serious attempts to apply human genomics to health care services. Knowledge on genetic bases, and interactions at molecular level leading to human diseases have huge potential for improving their

diagnosis, prognosis, treatment and prevention; and it implies a challenge as to how to interpret this information and how to train medical doctors in their application.

The present article comprises a study of the last progress made, and benefits and limitations of genomic analysis in clinical practice and its tools, and it also includes a sketch of tendencies and their extrapolation in the near future and, finally, the situation in our country is analyzed.

Résumé

Au cours des dix dernières années, on a vu une augmentation exponentielle aussi bien des connaissances de la génétique médicale que dans la capacité d'analyse le génome humain. Dans les années à venir, il est probable que ces tendances continueront, en rendant nécessaire l'incorporation de ces outils dans la pratique médicale quotidienne. Actuellement, nous assistons aux premiers essais sérieux d'application de la génomique humaine à l'attention de la santé. La connaissance des bases génétiques, et les interactions au niveau moléculaire qui conduisent aux maladies humaines, ont des potentialités énormes pour améliorer le diagnostic, le pronostic, le traitement et la prévention de celles-ci, et implique le défi de comment interpréter cette information et de comment former les médecins pour qu'ils l'utilisent.

Dans ce travail, nous analysons les derniers développements, les bénéfiques et les contraintes de l'analyse génomique en clinique, les outils utilisés pour ce faire, nous faisons l'ébauche de quelques tendances et leur extrapolation dans le futur immédiat et, enfin, nous analysons la situation dans notre milieu.

Resumo

Nos últimos dez anos observou-se um aumento exponencial tanto do conhecimento de genética médica como da capacidade de analisar o genoma humano. É provável que esta tendência se mantenha nos próximos anos, sendo necessário, portanto incorporar estas ferramentas na prática médica diária. Atualmente estamos assistindo às primeiras tentativas sérias de aplicar a genômica humana à atenção de saúde. O conhecimento das bases genéticas, e das interações a nível molecular que causam as doenças humanas, têm um potencial enorme para melhorar o diagnóstico, o prognóstico, o tratamento e a prevenção das mesmas, e gera o desafio para interpretar essa informação e para educar os médicos sobre como utilizá-la.

Neste trabalho analisamos os últimos progressos, os benefícios e as limitações da aplicação da análise genômica na clínica, as ferramentas utilizadas com esse fim, sugerimos algumas tendências e fazemos algumas extrapolações

para o futuro imediato, e finalmente, analisamos a situação no nosso meio.

Bibliografía

1. **Guttmacher A, Collins F.** Genomic Medicine - a primer. *N Engl J Med* 2002; 347(19): 1512-20.
2. **Khoury MJ, Gwinn M, Yoon PW, Dowling N, Moore CA, Bradley L.** The continuum of translation research in genomic medicine: how can we accelerate the appropriate integration of human genome discoveries into health care and disease prevention? *Genet Med* 2007; 9: 665-74.
3. **Yoon PW, Chen B, Faucett A, Clyne M, Gwinn M, Lubin IM, et al.** Public health impact of genetic tests at the end of the 20th century. *Genet Med* 2001; 3: 405-10.
4. **Khoury MJ.** Genetics and genomics in practice: the continuum from genetic disease to genetic information in health and disease. *Genet Med* 2003; 5(4): 261-8.
5. **Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, et al.** Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359(6396): 641-4.
6. **Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, Pearson CM.** High association of an HL-A antigen, W27, with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med* 1973; 288(14): 704-6.
7. **Human Genome Project Information.** Medicine and the New Genetics. Obtenido de: www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/medicine/medicine.shtml. (Consulta: marzo de 2009).
8. **Collins F.** Shattuck lecture-medical and societal consequences of the Human Genome Project. *N Engl J Med* 1999; 341(1): 28-37.
9. **Munroe JB.** A coalition to drive personalized medicine forward. *Personalized Med* 2004; 1(1): 9-13.
10. **Guttmacher A, Collins F.** Genomic Medicine - a primer. *N Engl J Med* 2002; 347(19): 1512-20.
11. **Lander ES.** The new genomics: global views of biology. *Science* 1996; 274: 536-9.
12. **Schadt EE.** Embracing complexity of common human diseases through technology integration. *Nat Rev Genet* 2007; 8: S24.
13. **Frayling TM.** Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 657-62.
14. **Teri A, Manolio, Lisa D, Brooks, and Francis S. Collins, A.** HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest* 2008; 118: 1590-605.
15. **Pearson TA, Manolio TA.** How to interpret a genome-wide association study. *JAMA* 2008; 299(11): 1335-44.
16. **Levy S, Sutton G, Ng PC, Feuk L, Halpern AL, Walenz BP, et al.** The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biology* 2007; 5(10): e254.
17. **Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, Shen Y, Chen L, McGuire A, et al.** The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 2008; 452: 872-77.
18. **Wang J, Wang W, Li R, Li Y, Tian G, Goodman L, et al.** The diploid genome sequence of an Asian individual. *Nature* 2008; 456(7218): 60-5.
19. **Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, Smith GP, Milton J, Brown CG, et al.** Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 2008; 456(7218): 53-9.
20. **Ley TJ, Mardis ER, Ding L, Fulton B, McLellan MD, Chen K, et al.** DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome. *Nature* 2008; 456: 66-72.
21. **Ng PC, Zhao Q, Levy S, Strausberg RL, Venter JC.** Individual genomes instead of race for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 84(3): 306-9.
22. **Check E.** Celebrity genomes alarm researchers. *Nature* 2007; 447: 358-9.
23. **Illumina/ Solexa Ld.** The illumina genoma analyzer. Obtenido de: <http://www.illumina.com/> (Consulta: marzo de 2009).
24. **Bennett ST, Barnes C, Cox A, Davies L, Brown C.** Toward the 1,000 dollars human genome. *Pharmacogenomics* 2005; 6(4): 373-82.
25. **Mardis ER.** Anticipating the \$1,000 genome. *Genome Biol* 2006; 7: 112.
26. **Wolinsky H.** The thousand-dollar genome. Genetic brinkmanship or personalized medicine? *EMBO Rep* 2007; 8(10): 900-3.
27. **Hood L, Heath JR, Phelps ME, Lin B.** Systems biology and new technologies enable predictive and preventative medicine. *Science* 2004; 306(5696): 640-3.
28. **Keating BJ, Tischfield S, Murray SS, Bhangale T, Price TS, Glessner JT, et al.** Concept, design and implementation of a cardiovascular gene-centric 50 K SNP array for large-scale genomic association studies. *PLoS One* 2008; 3(10): e3583.
29. **Church GM.** The personal genome project. *Mol Syst Biol* 2005; 1: 0030.
30. **Goetz T.** How the personal genome project could unlock the mysteries of life. (26/07/2008). *Wired Magazine* 2008. Obtenido de: http://www.wired.com/medtech/stemcells/magazine/16-08/ff_church (Consulta: marzo de 2009).
31. **Locke, S.** Meet my genome: 10 people release their DNA on the Web. (21/10/2008). Obtenido de: <http://www.sciam.com/blog/60-second-science/post.cfm?id=meet-my-genome-10-people-release-th-2008-10-21>. (Consulta: marzo de 2009).
32. **Pinker S.** My genome, my self. *New York Times* (11/01/2009). Obtenido de: http://www.nytimes.com/2009/01/11/magazine/11Genome-t.html?pagewanted=1&_r=1&ref=magazine. (Consulta: marzo de 2009).
33. **Rockhill B, Kawachi I, Colditz GA.** Individual risk prediction and population-wide disease prevention. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 176-80.
34. **Paolo Vineis, Paul Schulte, Anthony J McMichael.** Misconceptions about the use of genetic tests in populations. *Lancet* 2001; 357: 709-12.
35. **Hunter DJ, Khoury MJ, Drazen JM.** Letting the genome out of the bottle - will we get our wish? *N Engl J Med* 2008; 358: 2: 105-7.
36. **Pollack A.** Gene testing questioned by regulators. *New York Times* (26/06/2008). Obtenido de: <http://www.nytimes.com/2008/06/26/business/26gene.html?ref=health> (Consulta: marzo de 2009).
37. **Wadman M.** Gene-testing firms face legal battle. *Nature* 2008; 453(7199): 1148-9.
38. **LRRK2** (18/09/2008). Obtenido de: <http://too.blogspot.com/> (Consulta: marzo de 2009).
39. **Lewontin R.** La diversidad humana. Barcelona: Prensa Científica, 1984.
40. **Helen M, Colhoun, Paul M McKeigue, George Davey Smith.** Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003; 361: 865-72.
41. **Reich DE, Lander ES.** On the allelic spectrum of human disease. *Trends Genet* 2001; 17: 502-10.
42. **Thomas PD, Kejariwal A.** Coding single-nucleotide polymorphisms associated with complex vs mendelian disease: evolutionary evidence for differences in molecular effects. *PNAS* 2004; 101(43): 15398-403.

43. **Tishkoff SA, Williams SM.** Genetic analysis of African populations: human evolution and complex disease. *Nat Rev Gen* 2002; 3: 611-21.
44. **Mulder HJ, van Geel PP, SchaliJ MJ, van Gilst WH, Zwinderman AH, Brusckhe AV.** DD ACE gene polymorphism is associated with increased coronary artery endothelial dysfunction: the PREFACE trial. *Heart* 2003; 89: 557-8.
45. **Sayed-Tabatabaei FA, Houwing-Duistermaat JJ, van Duijn CM, Witteman JCM.** Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and carotid artery wall thickness a meta-analysis. *Stroke* 2003; 34: 1634-9.
46. **Prak ET, Kazazian HH Jr.** Mobile elements and the human genome. *Nat Rev Genet* 2000; 1: 134-44.
47. **Stoll M, Esperón P, Raggio V.** Diagnóstico molecular del polimorfismo I/D del gene de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) como factor de riesgo cardiovascular. *Rev Urug Patol Clín* 2003; 37: 23-31.
48. **Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, et al.** Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res* 2006; 16: 949-61.
49. **Sebat J.** Major changes in our DNA lead to major changes in our thinking. *Nat Genet* 2007; 39: S3-5.
50. **Iles MM.** What can genome-wide association studies tell us about the genetics of common disease? *PLoS Genet* 2008; 4(2): e33.
51. **Gorlov IP, Gorlova OY, Sunyaev SR, Spitz MR, Amos CI.** Shifting paradigm of association studies: value of rare single-nucleotide polymorphisms. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 100-12.
52. **Wang L, Fan C, Topol SE, Topol EJ, Wang Q.** Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease. *Science* 2003; 302: 1578-81.
53. **Cohen JC, Kiss RS, Pertsemliadis A, Marcel YL, McPherson R, Hobbs HH.** Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of HDL cholesterol. *Science* 2004; 305: 869-72.
54. **Cho JH, Abraham C.** Inflammatory bowel disease genetics: Nod2. *Ann Rev Med* 2007; 58: 401-16.
55. **Romeo S, Pennacchio LA, Fu Y, Boerwinkle E, Tybjaerg-Hansen A, et al.** Population-based resequencing of ANGPTL4 uncovers variations that reduce triglycerides and increase HDL. *Nat Genet* 2007; 39: 513-6.
56. **Freeman JL, Perry G, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, et al.** Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res* 2006; 16: 949-61.
57. **Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al.** Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006; 444: 444-54.
58. **McCarroll SA, Altshuler DM.** Copy-number variation and association studies of human disease. *Nat Genet* 2007; 39: S37-S42.
59. **Lupski JR.** Genomic rearrangements and sporadic disease. *Nat Genet* 2007; 39: S43-S47.
60. **González E, Kulkarni H, Bolívar H, Mangano A, Sánchez R, Catano G, et al.** The influence of CCL3L1 gene-containing segmental duplications on HIV-1/AIDS susceptibility. *Science* 2005; 307: 1434-40.
61. **Aitman TJ, Dong R, Vyse TJ, Norsworthy PJ, Johnson MD, Smith J, et al.** Copy number polymorphism in Fcgr3 predisposes to glomerulonephritis in rats and humans. *Nature* 2006; 439: 851-5.
62. **Yang Y, Chung EK, Wu YL, Savelli SL, Nagaraja HN, Zhou B, et al.** Gene copy-number variation and associated polymorphisms of complement component C4 in human systemic lupus erythematosus (SLE): low copy number is a risk factor for and high copy number is a protective factor against SLE susceptibility in European Americans. *Am J Hum Genet* 2007; 80: 1037-54.
63. **Fanciulli M, Norsworthy PJ, Petretto E, Dong R, Harper L, Kamesh L, et al.** FCGR3B copy number variation is associated with susceptibility to systemic, but not organ-specific, autoimmunity. *Nat Genet* 2007; 39: 721-3.
64. **Myocardial Infarction Genetics Consortium.** Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants. *Nat Genet* 2009; 41: 334-41. Obtenido de: <http://www.nature.com/ng/journal/v41/n3/abs/ng.327.html> (Consulta: marzo de 2009).
65. **Estivill X, Armengol L.** Copy number variants and common disorders: filling the gaps and exploring complexity in genome-wide association studies. *PLoS Genet* 2007; 3(10): e190.
66. **1000 Genomes.** A deep catalog of human genetic variation. Obtenido de: <http://www.1000genomes.org/page.php?page=home> (Consulta: marzo de 2009).
67. **Bjornsson HT, Fallin MD, Feinberg AP.** An integrated epigenetic and genetic approach to common human disease. *Trends Genet* 2004; 20: 350-8.
68. **Rodenhiser D, Mann M.** Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ* 2006; 174(3): 341-8.
69. **Mattick JS.** RNA regulation: a new genetics? *Nat Rev Genet* 2005; 5: 316-23.
70. **Mattick JS.** Challenging the dogma: the hidden layers of non-protein-coding RNAs in complex organisms. *Bioessays* 2003; 25: 930-9.
71. **Van Rooij E, Olson E.** MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest* 2007; 117: 2369-76.
72. **Morgan HD, Sutherland H, Martin D, Whitelaw E.** Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nature* 1999; 23: 314-8.
73. **Hatchwell E, Greally JM.** The potential role of epigenomic dysregulation in complex human disease. *Trends Genet* 2007; 23(11): 588-95.
74. **Ordovas JM, Mooser V.** Nutrigenomics and nutrigenetics. *Curr Op Lipidol* 2004, 15: 101-8.
75. **Gallou-Kabani C, Junien C.** Nutritional epigenomics of metabolic syndrome. *Diabetes* 2005; 54: 1899-906.
76. **Tang WY, Ho SM.** Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. *Rev Endocr Metab Disord* 2007; 8(2): 173-82.
77. **Strohman RC.** Linear genetics, non-linear epigenetics: complementary approaches to understanding complex diseases. *Integr Physiol Behav Sci* 1995; 30(4): 273-82.
78. **Oligny LL.** Cancer and epigenesis: a developmental perspective. *Adv Pediatr* 2003, 50: 59-80.
79. **Cho KS, Elizondo LI, Boerkoel CF.** Advances in chromatin remodeling and human disease. *Curr Opin Genet Dev* 2004; 14(3): 308-15.
80. **Kaati G, Bygren LO, Edvinsson S.** Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *Eur J Hum Genet* 2002; 10: 682-8.
81. **Peedicayil J.** Epialleles and common disease. *Med Hypotheses* 2005; 64: 215.
82. **Rodenhiser D, Mann M.** Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ* 2006; 174(3): 341-8.
83. **Yang Q, Khoury MJ, Botto L, Friedman JM, Flanders WD.** Improving the prediction of complex diseases by testing for multiple disease-susceptibility genes. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 636-49.

84. **Khoury MJ, Yang Q, Gwinn M, Little J, Flanders D.** An epidemiologic assessment of genomic profiling for measuring susceptibility to common diseases and targeting interventions. *Genet Med* 2004; 6(1): 38-47.
85. **Yang QH, Khoury MJ, Friedman JM, Little J, Flanders WD.** How many genes underlie the occurrence of common complex diseases in the population? *Int J Epidemiol* 2005; 34, 1129-37.
86. **Humphries SE, Talmud PJ, Hawe E, Bolla M, Day INM, Miller GJ.** Apolipoprotein E4 and coronary heart disease in middle-aged men who smoke: a prospective study. *Lancet* 2001; 358, 115-9.
87. **Talmud PJ, Bujac SR, Hall S, Miller GJ, Humphries SE.** Substitution of asparagine for aspartic acid at residue 9 (D9N) of lipoprotein lipase markedly augments risk of ischaemic heart disease in male smokers. *Atherosclerosis* 2000; 149(1): 75-81.
88. **Talmud PJ, Stephens JW, Hawe E, Demissie S, Cupples LA, Hurel SJ, et al.** The significant increase in cardiovascular disease risk in APOE epsilon 4 carriers is evident only in men who smoke: potential relationship between reduced antioxidant status and ApoE4. *Ann Hum Genet* 2005; 69, 613-22.
89. **Williams SM, Ritchie MD, Phillips JA, Dawsons E, Prineas M, Dzhurad E.** Multilocus analysis of hypertension: a hierarchical approach. *Hum Hered* 2004; 57: 28-38.
90. **Williams SM, Addy JH, Phillips JA 3rd, Dai M, Kpodonu J, Afful J, et al.** Combinations of variations in multiple genes are associated with hypertension. *Hypertension* 2000; 36: 2-6.
91. **Flex A, Gaetani E, Papaleo P, Straface G, Proia AS, Pecorini G.** Proinflammatory genetic profiles in subjects with history of ischemic stroke. *Stroke* 2004; 35: 2270-5.
92. **Pezzini A, Grassi M, Del Zotto E, Archetti S, Spezi R, Vergani V, et al.** Cumulative effect of predisposing genotypes and their interaction with modifiable factors on the risk of ischemic stroke in young adults. *Stroke* 2005; 36: 533-9.
93. **Grassi M, Assanelli D, Mozzini C, Albertini F, Salvadori G, Archetti S, et al.** Modeling premature occurrence of acute coronary syndrome with atherogenic and thrombogenic risk factors and gene markers in extended families. *J Thromb Haemost* 2005; 3(10): 2238-44.
94. **Stoll M, Esperón P, Raggio V, Lorenzo M, Artucio MC, Kuster F.** Combination of genetic polymorphisms and smoker status in high risk families. *World Congress of Cardiology*, 16 (Buenos Aires, 18-21 may 2008).
95. **Drenos F, Whittaker JC, Humphries SE.** The use of meta-analysis risk estimates for candidate genes in combination to predict coronary heart disease risk. *Ann Hum Genet* 2007; 71 (Pt 5): 611-9.
96. **Yamada Y.** Identification of genetic factors and development of genetic risk diagnosis systems for cardiovascular diseases and stroke. *Circ J* 2006; 70: 1240-8.
97. **Weedon MN, McCarthy MI, Hitman G, Walker M, Groves CJ, Zeggini E, et al.** Combining information from common type 2 diabetes risk polymorphisms improves disease prediction. *PLoS Med* 2006; 3(10): e374.
98. **Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, et al.** Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 359: 2220-32.
99. **Meigs JB, Shrader P, Sullivan LM, McAteer JB, Fox CS, Dupuis J, et al.** Genotype score in addition to common risk factors for prediction of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 359: 2208-19.
100. **Bouchard L, Tremblay A, Bouchard C, Pérusse L.** Contribution of several candidate gene polymorphisms in the determination of adiposity changes: results from the Québec Family Study. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31(6): 891-9.
101. **Ribalta J, Halkes C, Salazar J, Masana L, Cabezas MC.** Additive effects of the PPAR γ , APOE, and FABP-2 genes in increasing daylong triglycerides of normolipidemic women to concentrations comparable to those in men. *Clin Chem* 2005; 51(5): 864-71.
102. **Demchuk E, Yucesoy B, Johnson V, Andrew M, Weston A, Germolec DR, et al.** A statistical model for assessing genetic susceptibility as a risk factor in multifactorial diseases: lessons from occupational asthma. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 231-4.
103. **Pharoah P, Antoniou A, Easton DF, Ponder B.** Polygenes, risk prediction, and targeted prevention of breast cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 2796-803.
104. **Croce CM.** Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 502-11.
105. **Austin M, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE.** Familial hypercholesterolemia and coronary heart disease: a huge association review. *Am J Epidemiol* 2004; 160(5): 421-9.
106. **Stoll M, Esperón P, Raggio V.** Progresos en la identificación de pacientes con Hipercolesterolemia Familiar (HF). Avances hacia un registro nacional de HF. *Bol Com Hon Salud Cardio* 2005; VII (1): 42-3.
107. **Humphries SE, Cooper JA, Talmud PJ, Miller GJ.** Candidate gene genotypes, along with conventional risk factor assessment, improve estimation of coronary heart disease risk in healthy UK men. *Clin Chem* 2007; 53: 8-16.
108. **Lettre G, Jackson AU, Gieger C, Schumacher FR, Berndt SI, Sanna S, et al.** Identification of ten loci associated with height highlights new biological pathways in human growth. *Nature* 2008; 40(5): 584-91.
109. **Stoll M, Raggio V.** La historia familiar – el primer paso a la genómica médica. *Tendencias* 2007; (30): 117-23.
110. **Stoll M, Raggio V.** La historia familiar como instrumento de prevención en la enfermedad cardiovascular. *Bol Com Hon Salud Cardio* 2002; IV(1): 43-9.
111. **Humphries SE, Ridker PM, Talmud PJ.** Genetic testing for cardiovascular disease susceptibility: a useful clinical management tool or possible misinformation? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 628-36.
112. **Allen JK.** Genetics and cardiovascular disease. *Nurs Clin North Am* 2000; 35(3): 653-62.
113. **Raggio V, Esperón P, Stoll M.** Polimorfismos de la apolipoproteína E: convergencia de factores de riesgo genético para arteriosclerosis y el deterioro neurológico. *Bol Com Hon Salud Cardio* 2006; VIII (1): 20-4.
114. **Ray M, Ruan J, Zhang W.** Variations in the transcriptome of Alzheimer's disease reveal molecular networks involved in cardiovascular diseases. *Genome Biol* 2008; 9: R148.
115. **Becker KG.** The common variants/multiple disease hypothesis of common complex genetic disorders. *Med Hypotheses* 2004; 62: 309-17.
116. **Mancinelli L, Cronin M, Sadée W.** Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine. *AAPS PharmSci* 2000; 2(1) article 4.
117. **Evans WE, Relling M.** Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature* 2004; 429(6990):464-8.
118. **Evans WE, Relling M.** Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286: 487-91.
119. **Raggio V, Neira P, Esperón P, Lorenzo M, Stoll M.** Respuesta terapéutica inadecuada a la warfarina en un paciente genéticamente susceptible. *Rev Méd Urug* 2005; 21: 242-6.
120. **Raggio V, Esperón P, Taub I, Rodríguez A, Lorenzo M,**

- Cuesta A, et al. Genotipo para CYP2C9 y apolipoproteína E y respuesta individual a la warfarina. *Rev Urug Cardiol* 2006; 21: 106-17.
121. **Esperón P, Raggio V, Goyeneche L, Lorenzo M, Tabú I, Stoll M.** Genotipo de los genes VKORC1 y CYP2C9 en la respuesta individual a la warfarina. *Rev Méd Urug* 2008; 24: 267-77.
122. **Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K, Savolainen M, Klausen IC, Hansen PS, et al.** The apolipoprotein _4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction. A substudy of the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Circulation* 2000; 101: 1366-71.
123. **Müller M, Kersten S.** Nutrigenomics: goals and strategies. *NRG* 2003; 4: 315-22.
124. **Ordovas JM, Corella D.** Nutritional genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2004; 5: 71-118.
125. **Siffert W.** G protein beta3 subunit 825T allele, hypertension, obesity, and diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1298-306.
126. **Ruggenti P, Bettinaglio P, Pinares F, Remuzzi G.** Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism and renoprotection in diabetic and nondiabetic nephropathies. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(5): 1511-25.
127. **Algerholm-Larsen, B.** ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(2): 484.
128. **Valiño J, Fraga L, Pisano A(h), Raggio V, Esperón P, Guerra A, et al.** Evaluación de polimorfismos genéticos relacionados a riesgo vascular en pacientes diabéticos tipo 2. Congreso Latinoamericano de Diabetes, 12. (San Pablo, Brasil, 2004).
129. **International HapMap Project.** How will the hapmap benefit human health? Obtenido de: <http://www.hapmap.org/healthbenefit.html> (Consulta: marzo de 2009).
130. **Gehrs KM, Anderson DH, Johnson LV, Hageman GS.** Age-related macular degeneration—emerging pathogenetic and therapeutic concepts. *Ann Med* 2006; 38(7): 450-71.
131. **Etcheverry L, Graña M, Marotta A, Naya H, Raggio V, Ruggia R.** Enabling GWAS meta-analysis through data quality management, 2008. Microsoft eScience Workshop (Indianapolis, USA, 2008).
132. **Zintzaras E, Lau J.** Trends in meta-analysis of genetic association studies. *J Hum Genet* 2008; 53: 1-9.
133. **Chen R, Morgan AA, Dudley J, Deshpande T, Li L, Kodama K, et al.** FitSNPs: highly differentially expressed genes are more likely to have variants associated with disease. *Genome Biol* 2008; 9: R170.
134. **Dixon AL, Liang L, Moffatt MF, Chen W, Heath S, Wong KC, et al.** A genomewide association study of global gene expression. *Nat Genet* 2007; 39: 1202-7.
135. **Hunter D, Altshuler D, Rader DJ.** From Darwin's finches to canaries in the coal mine—mining the genome for new biology. *N Engl J Med* 2008; 358: 2760-3.
136. **Inoue K, Lupski JR.** Genetics and genomics of behavioral and psychiatric disorders. *Curr Opin Genet Dev* 2003; 13: 303-9.
137. **Altshuler D, Daly MJ, Lander ES.** Genetic mapping in human disease. *Science* 2008; 322: 881-8.
138. **International HapMap Consortium.** Integrating ethics and science in the International HapMap Project. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 467-75.
139. **Human Genome Project Information.** Ethical, legal, and social issues. Obtenido de: http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/elsi/elsi.shtml (Consulta: marzo de 2009).
140. **Hardy BJ, Séguin B, Goodsaid F, Jiménez-Sánchez G, Singer PA, Daar AS.** The next steps for genomic medicine: challenges and opportunities for the developing world. *Nature Rev Gen* 2008; S23-S27.
141. **Comisión Honoraria Para la Salud Cardiovascular.** Obtenido de: <http://www.cardiosalud.org/> (Consulta: marzo de 2009).
142. **Stoll M, Raggio V.** La historia familiar como instrumento de prevención en la enfermedad cardiovascular. *Bol Com Hon Salud Cardio* 2002; 4(1): 43-9.
143. **Universidad de la República. Facultad de Medicina. Departamento de Genética.** Obtenido de: <http://www.genetica.fmed.edu.uy/> (Consulta: marzo de 2009).
144. **Hospital de Clínicas. Servicio de Oncología Clínica.** Obtenido de: www.oncologiamedica.hc.edu.uy/grup5.html. (Consulta: marzo de 2009).
145. **Larre Borges García A, Scarone M, Delgado L, Núñez J, Laporte M, Fernández G, et al.** Predisposición hereditaria de padecer melanoma en familias uruguayas. Resultados preliminares. *Rev Méd Urug* 2007; 23: 109-15.
146. **Sarroca C, Alfano N, Bendin GT, Della Valle A, Domínguez A, Quadrelli R, et al.** Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome II) in Uruguay. *Dis Colon Rectum* 2000; 43(3): 353-60.
147. **Grupo Colaborativo Uruguayo. Investigación de Afecciones Oncológicas Hereditarias (GCU).** Obtenido de: <http://www.dnsffaa.gub.uy/GCU/grupocolaborativouruguayo.htm> (Consulta: mar 09).
148. **Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, Guyer MS; US National Human Genome Research Institute.** A vision for the future of genomics research. *Nature* 2003; 422: 835-47.
149. **Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, Guyer MS; US National Human Genome Research Institute.** A vision for the future of genomics research. *Nature* 2003; 422: 835-47.
150. **van Langen IM, Birnie E, Leschot NJ, Bonsel GJ, Wilde A.** Genetic knowledge and counselling skills of Dutch cardiologists: sufficient for the genomics era? *Eur Heart J* 2003; 24: 560-6.
151. **National Institute of Genomic Medicine. México.** Obtenido de: [http://www.inmegen.org.mx./](http://www.inmegen.org.mx/) (Consulta: marzo de 2009).
152. **Raggio V, Roche L, Esperón P, Stoll M.** Curso on-line: introducción a la medicina genómica. Primera experiencia. *Rev Méd Urug* 2007; 23: 116-21.
153. **Raggio V.** Un blog de genética para médicos. Obtenido de: <http://geneticamedicina.blogspot.com> (Consulta: marzo de 2009).