

REAL ACADEMIA DE MEDICINA
Y
CIRUGÍA DE GRANADA

DISCURSO
pronunciado por el
ILTMO. SR. D. JOSÉ A. GÓMEZ CAPILLA

DE MENDEL A WATSON
Y CRICK

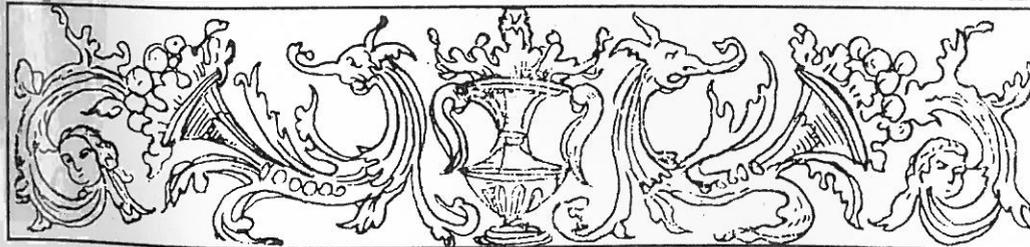
Una estrecha relación
entre ciencia y medicina

CONTESTACIÓN
del
EXCMO. SR. D. VICENTE PEDRAZA MURIEL

29 de octubre



GRANADA 2004



LÓN
Vº
9

REAL ACADEMIA DE MEDICINA
Y
CIRUGÍA DE GRANADA

**DE MENDEL A WATSON
Y CRICK:
UNA ESTRECHA RELACIÓN
ENTRE CIENCIA Y MEDICINA**

DISCURSO

Pronunciado por el

ILTMO. SR. D. JOSÉ ANTONIO GÓMEZ CAPILLA

en su recepción Académica

y

CONTESTACION

del

EXCMO. SR. D. VICENTE PEDRAZA MURIEL

En la sesión celebrada en el Salón de Actos
de la Real Academia de Medicina el día 29 de octubre

GRANADA
2004

PRÓLOGO

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina de Granada,
Excmas. e Ilmas. Autoridades,
Ilmos. Sres. Académicos,
Señoras y señores.

Queridos amigos:

Para cumplir con la responsabilidad y el deber de dar lectura al discurso de ingreso en esta Ilustre Corporación Académica me presento ante ustedes revestido de mis más profundos y sinceros sentimientos de gratitud, responsabilidad y compromiso.

Gratitud que deseo expresarla en primer lugar a su Presidente, mi querido amigo el Profesor Enrique Villanueva y, a todos los miembros de esta Docta Corporación por la decisión que han tomado de dedicar un sillón con la denominación de Bioquímica y Biología Molecular, pero sobre todo por haber aceptado la propuesta de mis queridos amigos y académicos, los Profesores Pedraza Muriel, Molina Font y Malde Veiga que me va a permitir incorporarme a esta institución como Académico Numerario.

No sabría que decir del gran honor que para mí representa esta distinción, sólo sé que se lo debo a vosotros y no a mis méritos. Cumplido con el noble deber de la gratitud quiero manifestar igualmente mi compromiso y responsabilidad con la Academia de colaborar lealmente con todos sus miembros y, trabajar para la consecución de sus objetivos en todo aquello que se me encomiende.

Mi presencia aquí no ha sido fruto de la casualidad, sino fruto de una larga y feliz historia de 62 años. Nací en Granada en el seno de

una familia que mi hizo feliz. El amor de mis padres, a los que tanto quise y aún tanto quiero, ha acompañado y envuelto toda mi vida y, quizás esa sea la causa de no haber cometido nunca el error de creer que las metas que haya podido alcanzar sean debido exclusivamente a mis propios méritos.

Mi formación como hombre y como cristiano se la debo a ellos, a mis hermanas y a mis abuelos de los que nunca me separé y, junto con la educación que recibí durante mis años de permanencia en el Colegio de los Padres Escolapios, de los que guardo un gratísimo recuerdo, forjaron mi vida y mi carácter. De mi padre, que era maestro aprendí mis primeras letras y de mi madre mis primeras oraciones.

Mi formación como científico se inició en la Facultad de Ciencias Químicas de Granada, donde me licencié en el año 1967. De entonces guardo todavía en mi memoria afectiva la figura de mis primeros maestros, los profesores D. Adolfo Rancaño, D. Juan de Dios López, D. Fermín Capitán y D. Ricardo Granados.

Finalizados mis estudios de licenciatura y, tras un breve periodo de formación en el departamento de Química Analítica, ocurrió el acontecimiento de más trascendencia que finalmente me ha conducido a este momento en el que me presento ante ustedes. Conocí a mi amigo Carlos Osorio. Él me propuso incorporarme a su equipo para explicar la Bioquímica en la Facultad de Medicina, desde entonces ya han pasado 35 años. Desempeñé toda mi actividad profesional como científico y como docente en su departamento, del que finalmente he llegado a ser su Director, con la sola excepción de los años que pasé completando mi formación científica en Edimburgo y en Houston donde trabajé bajo la dirección de los profesores Langslow y Haselwood. Bajo su dirección y la del profesor, mi querido amigo, José M^a Macarulla realicé toda la labor de investigación con la que obtuve el grado de Doctor.

Desde mi formación como químico empecé a interesarme por la Medicina y comprendí y encontré mi verdadera vocación. Poder dar explicaciones químicas a los problemas planteados por la Medicina, razón por la cual no sólo creí necesario, sino que deseé lo que finalmente pude conseguir; hacerme médico.

Carlos Osorio, mi amigo, mi maestro y Académico de esta Real Corporación hoy no puede ocupar su sillón. Él, con su estilo agresivo,

desenfadado y crítico sacudió la vida académica de nuestra Facultad, creando un ambiente científico en el que se formaron bajo su dirección tantos profesionales de la enseñanza que hoy se reparten por toda la geografía universitaria española. De todos ellos yo tuve la suerte de ser el único que le acompañó hasta el final de su vida. En este momento en el que no lo encuentro entre los académicos hoy presentes, estoy seguro, sin dudarle ni un segundo, de la misma manera que él nunca dudó de mi fidelidad, de lo orgulloso que se sentiría de mi ingreso en la Academia.

Permítame señor Presidente que honre su memoria dedicándole mi discurso, como una afirmación de mi gratitud y afecto hacia su persona.

Mi actividad en el departamento de Fisiología y Bioquímica de la Facultad de Medicina, que más tarde se convertiría en el de Bioquímica y Biología Molecular, no se podría haber llevado a cabo sin su ayuda y la de tantos otros que se formaron bajo mi dirección y que tanto han contribuido a la creación de mi *currículum* y, a los que tanto debo y a los que tanto tengo que agradecerles. Todos ellos han seguido ya su propio camino. El último en escapar a mi tutela ha sido el profesor D. José Miguel Fernández al que considero mi amigo y mi alumno predilecto, con el que sigo manteniendo estrechos lazos de colaboración.

Mi orientación hacia el campo de la Biología Molecular me ha dado la oportunidad de formar un nuevo grupo de investigación con la inestimable ayuda de los profesores y amigos Angel Gil y Antonio Suárez. Las actividades científicas que estamos llevando a cabo están produciendo excelentes resultados y los motivos para ello lo entenderán cuando nombre sus componentes: Esther Farez, Carolina Gómez, Sonia Blanco, Sandra Gandía y Adelaida Antúnez. Mi gratitud a todas ellas por su esfuerzo y dedicación.

En este breve relato de la biografía de mi vida no puede faltar una referencia que sin duda le ha dado su verdadero sentido. Me estoy refiriendo, sin pudor alguno en manifestarlo, a mi matrimonio con la que hoy es mi mujer. M^a Amelia. Con ella he compartido 33 años de felicidad, de tal manera que no imagino como podría continuar viviendo sin su presencia. Hemos tenido tres hijos M^a Amelia, José Luis y Carolina y junto con mis nietos Carmen e Ignacio constituyen las personas que más amo en la vida, no sólo en el sentido que Santo

Tomás definía el Amor como una actividad sentimental, sino también en el sentido en que Ortega y Gasset lo describe basándolo en el encantamiento y la entrega. Lo que soy se lo debo a ellos.

Otras muchas personas que me han querido y ayudado en la vida y a las que yo tanto he querido hoy no están conmigo, pero me quedan sus recuerdos que como Gala describe en su obra *La Casa Sosegada*, son recuerdos con más aroma que un gran bosque de lilas en flor. El recuerdo y las tantas y tan largas conversaciones que mantuve con uno de ellos es lo que me ha inspirado el final de mi discurso. A él se lo dedico, y él sabe porqué.

Cuando finalmente tuve conciencia de que el trago de tener que leer mi discurso se acercaba, me invadió el temor de no estar a la altura intelectual de este docto auditorio, pero pasados unos momentos reaccioné dejándome arrebatar por la idea de poder hacerlo, lo que significa que he aceptado esta responsabilidad porque en el fondo me entusiasma la idea de llegar a ser académico de esta Real Academia de Medicina.

Espero de su benevolencia que acepten el contenido del mismo. No se si me equivoqué o no aceptando este reto, eso luego se verá, lo que si sé, es que he asumido como Hegel postuló el valor de equivocarme. Así es que vamos allá.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se acepta plenamente la influencia que ha tenido el progreso de los conocimientos bioquímicos en el desarrollo y evolución de la Medicina. La estrecha relación existente hoy día entre Bioquímica y Biología Molecular y Medicina es sin embargo fruto de una larga historia.

Hasta que no se estableció definitivamente que la vida, los organismos vivos, estaban regidos y gobernados por las mismas leyes de la Física y de la Química que gobiernan el mundo inanimado, no fue posible formular las cuestiones importantes relacionadas con la naturaleza de la vida. El desarrollo que estas ciencias alcanzaron suministraron al hombre el instrumento y el medio ideal con el que satisfacer

la exigencia humana fundamental de auto conocerse y de esta manera sentar las bases sobre las que nacería una nueva ciencia, la Bioquímica.

En un primer período, esta ciencia estuvo dominada por los intentos de identificar las moléculas que eran características de los seres vivos, explorándose en esta fase la vida desde un punto de vista de la química orgánica y, en verdad que los resultados fueron impresionantes estableciéndose el conocimiento de la naturaleza y la estructura de las principales moléculas que componen los organismos vivos. Sin embargo, esto no fue suficiente para satisfacer la curiosidad que sentía el hombre por auto conocerse y de este manera los bioquímicos se interesaron cada vez más en como estas moléculas se transformaban, lo que condujo a un segundo periodo de la Bioquímica, el del metabolismo intermediario.

A lo largo de su evolución histórica y junto con la aparición de nuevos hechos, la Bioquímica fue incorporando un conjunto de principios nuevos que la hicieron una materia mucho más comprensible, transformándose en un poderoso medio con el que analizar un buen número de problemas importantes en Biología.

La incorporación de nuevos y trascendentales hallazgos tales como el establecimiento de los principios de la transferencia de la energía, los mecanismos reguladores e integradores de las rutas metabólicas, la importancia que los elementos ultra estructurales de la célula tienen en la actividad molecular de la misma, la determinación de la configuración tridimensional de las proteínas por la secuencia de los aminoácidos y las nuevas y espectaculares aportaciones en el establecimiento de las bases moleculares de la Genética, hacen hoy de la Bioquímica una ciencia nueva y en cierto modo independiente de aquellas que la ayudaron en su nacimiento, como la Física y la Química.

La Bioquímica es una de las ciencias naturales más modernas, de hecho su vida como tal ciencia sólo abarca poco más de un siglo, en este sentido conviene recordar que fue Hoppe-Seyler quien propuso por primera vez en 1877 el nombre de Bioquímica en el primer número de la revista «*Zeitschrift Für Physiologische Chemie*». Sin embargo, se ha desarrollado a un ritmo vertiginoso profundizando como ningún otra ciencia en el conocimiento de los procesos vitales. Así

pues, la gran expansión experimentada en un pasado inmediato, su desarrollo actual y las previsiones para el futuro le conceden una importancia extraordinaria.

Puesto que los seres vivos están formados en su totalidad de sustancias químicas y debido a que el funcionamiento normal del organismo implica en última instancia procesos químicos, resulta evidente la importancia que tiene la Bioquímica para la cabal comprensión de la Medicina.

La Medicina, no obstante, ha estado unida al hombre desde su comienzo y prosperó de forma importante antes de que incorporara a su servicio la ciencia de la Química, siendo su situación actual consecuencia de la culminación evolutiva a través de los distintos periodos de la historia de la Medicina entre los cuales el que podemos denominar periodo de la Bioquímica ha sido sin duda el más trascendental.

DESARROLLO HISTÓRICO DE LA MEDICINA

Coincidiendo con las culturas arcaicas que crearon la escritura aparecen ya los primeros textos con referencia a la Medicina con un grado de complejidad alejado de su nivel más primitivo. Es hacia 1600 y 2250 a de C. cuando aparecen los primeros textos clásicos con referencia a la Medicina. El Código del Rey de Mesopotamia Hammurabi, donde se recoge la primera reglamentación legal del ejercicio médico y los papiros egipcios de Edwin Smith y de Ebers donde ya se trata la Medicina libre de los elementos mágicos-religiosos habituales en el resto de los papiros egipcios y que según López Piñero constituyen un claro ejemplo del desarrollo empírico médico conseguido por la cultura egipcia.

Con estos antecedentes, no es de extrañar la coincidencia de los orígenes del pensamiento filosófico y científico con los de la Medicina propiamente dicha. Así, en el siglo VI a. de C. surgen las primeras escuelas médicas griegas en Jonia y en la Magna Grecia.

Pero la gran fuente de conocimiento de la Medicina científica se encuentra en el Corpus Hippocraticum. A juicio de los hipocráticos

la salud dependía de la mezcla adecuada de los cuatro elementos: la sangre, la flema, la bilis amarilla y la bilis negra. Posteriormente, Aristóteles ejerció una profunda influencia sobre la Medicina al revisar la Teoría de los Elementos y sentar las bases de la Anatomía comparada.

La Medicina racional surgida de la Grecia clásica se extendió a través de toda la geografía de las zonas ocupadas por los estados helenísticos resultantes de la desmembración del imperio de Alejandro. Entonces se empezó a disecar cadáveres en Alejandría por Herófilo de Calcedonia y Erasítrato de Ceos inicia la experimentación en animales. La Medicina se desacraliza y se hace menos especulativa y antidogmática.

En la evolución de la Medicina desde el siglo III al II a de C. destaca la obra del enciclopedista romano Celso por la clara y sobria elegancia con la que expone el saber clínico. En lo fundamental, la compilación de Celso es fiel a la patología hipocrática, lo que indica que estas ideas aún estaban vigentes a pesar de los duros ataques recibidos por los novatores helenísticos (Lain Entralgo, 1998).

El final del período creador de la Medicina antigua está ocupado sin duda por la obra de Galeno que cobra una extraordinaria importancia no sólo por ocupar todos los campos del saber médico (Anatomía, Fisiología, Semiología, Patología, Terapéutica e Higiene) sino también por la exposición crítica de casi toda la Medicina Griega.

El saber médico griego y helenístico tuvo un aliado en el mundo arabeo-islámico de trascendencia fundamental para el futuro desarrollo de la Medicina, puesto que supo traducir, asimilar y ordenar los conocimientos de la Medicina apoyándose fundamentalmente en Galeno y en la ideología aristotélica. Corresponde a los siglos X y XI el periodo quizás de mayor esplendor protagonizado por Rhazes y Avicena, el clínico más importante sin duda de la Edad Media el primero y el autor del célebre Canon el segundo.

La vigencia de los esquemas galénicos de la Medicina continuó durante el Renacimiento y, aunque la Anatomía se separó de dichos esquemas, sin embargo la Fisiología continuó reducida a las nociones galénicas con la sola excepción del descubrimiento de la circulación pulmonar por Servet. La rebelión completa contra la patología y la

terapéutica tradicional se estableció finalmente con Paracelso (García Barreno, 1985), aunque la completa independencia de la tradición galénica y la formulación de las nuevas bases de la Fisiología y la Patología moderna se logran durante el Barroco donde la obra de William Harvey se constituye en el punto de partida del establecimiento del método fisiológico moderno basado en el experimento, la medición y la inducción.

Durante los años de la Ilustración, la Fisiología se constituye finalmente en una disciplina científica autónoma como consecuencia de la aceptación que se hace de la distinción entre forma y función.

En el siglo XIX, la ciencia médica cobra un esplendor extraordinario distinguiendo en este periodo Laín Entralgo tres orientaciones de la Medicina: la anatomoclínica, la fisiopatológica y la etiopatológica. En este periodo resaltan las figuras de Laënc, inventor de la auscultación; Von Frerichs, iniciador de la Fisiopatología metabólica, Pasteur o Koch que cambiaron la mentalidad etiopatológica introduciendo la doctrina del origen microbiano de la enfermedad, Morton, que propicia una auténtica revolución en el campo de la cirugía con la introducción de la anestesia o de Kocher, que impulsó el acceso quirúrgico a las cavidades o de las no menos espectaculares aportaciones de Bichat, Schwann, Virchow o Cajal que formularon la noción de tejido y la teoría celular que quedó definitivamente establecida con la teoría neuronal de Cajal.

Sin embargo, en la Medicina del siglo XIX, la figura que hizo posible el despegue definitivo de la Medicina hacia el conocimiento médico de nuestros días no cabe duda que es Claude Bernard.

En sus obras *Lecciones de Fisiología Experimental Aplicadas a la Medicina*, *Lecciones sobre Diabetes y Glicogénesis Animal* o en su primer folleto que luego sería libro *Introducción al Estudio de la Medicina Experimental*, se recogen los conceptos que hicieron a la Fisiología la gran protagonista de la Medicina del siglo XIX, haciendo de esta algo que la Física y la Química ya habían alcanzado, esto es, una Ciencia.

Para Bernard, las enfermedades son fenómenos biológicos en condiciones nuevas que hay que determinar a través del método experimental. A este respecto dejó escrito algo que refleja su carácter de auténtico científico innovador: *pero en el momento actual, nadie pue-*

de presumir de explicar la patología sólo mediante la Fisiología. Por el momento, lo procedente y razonable es explicar todo lo que podemos explicar en una enfermedad mediante la Fisiología y dejar lo que es aún inexplicable al futuro progreso de la ciencia biológica.

El progreso de la ciencia biológica y por ende el progreso de la Medicina corre paralelo al progreso de la investigación en el campo de la Física, la Química y disciplinas afines que proporcionaron nuevas tecnologías contribuyendo de manera decisiva al conocimiento de la Bioquímica, Fisiología, Patología y Clínica médico quirúrgica. De esta manera se produce una transición del siglo XIX al X justo con el nacimiento de una nueva era fruto de una larga maduración del pensamiento científico. Me estoy refiriendo al comienzo de la moderna Bioquímica.

El concepto que actualmente tenemos de esta ciencia representa la culminación evolutiva a través de los distintos periodos de la historia durante los cuales la Bioquímica se ha ido enriqueciendo con nuevas aportaciones. La Bioquímica, cuyo nacimiento real no ocurre antes de los tiempos de Lavoisier comienza constituyendo la alquimia aplicada a la Medicina, después a la Química general y posteriormente a la Química orgánica, fusionándose por último con la Fisiología bajo la denominación de Química Fisiológica. Es este el momento en el que se inicia el nacimiento de un nuevo paradigma de la ciencia. Se trata del nacimiento de la moderna Bioquímica y de su posterior distanciamiento y separación de la Química Fisiológica al principio del siglo XX (Kohler, 1987) estableciéndose de forma definitiva lo que años anteriores Hoppe-Seyler había manifestado: *La Bioquímica a partir de sus naturales y necesarios comienzos analíticos se ha transformado en una auténtica ciencia.*

Con la sorprendente ampliación que sufrió la Bioquímica en el siglo XX como ciencia básica y en virtud de la capacidad mayor y creciente de abordar los problemas biológicos a nivel molecular, es en sí misma en la actualidad un estímulo importante para la Medicina, que si ha progresado de modo espectacular en los últimos años en parte es debido al propio desarrollo de la Bioquímica que ha aportado explicaciones químicas lógicas a los procesos más complejos de

la fisiología y la patología humana, estableciéndose así una estrecha relación entre Bioquímica y Medicina. Un índice de lo que acabamos de afirmar es el hecho de que el 73% de los premios Nobel de Medicina adjudicados entre los años 1940 hasta la actualidad lo han sido por trabajos estrictos de Bioquímica.

Como parte fundamental del desarrollo histórico que sufre la Bioquímica en el siglo XX y, debido a la necesidad de enfrentarse a nuevos fenómenos biológicos, con un nuevo concepto elitista de los mismos y de las moléculas implicadas, nace la Biología Molecular cuya relación de origen con la Bioquímica tiene según el profesor Municio entre otras las siguientes causas:

- 1) *Una visión con frecuencia abstrusa y muchas veces revolucionista en exceso de la Física Biológica.*
- 2) *El impulso de otras ramas de la ciencia que revierten su influencia conceptual sobre la propia Biología Molecular.*
- 3) *El estímulo de las necesidades sociales sobre la promoción de la Biología.*
- 4) *El determinismo rítmico de la historia de la ciencia desde su confluencia única en la Filosofía, que va separando y reuniendo de manera alternativa las ramas de la ciencia. Al desaparecer el aislamiento de la autonomía de la Biología Molecular, cede esta a la ciencia de la Bioquímica Unificada toda la riqueza metodológica y de ideas que ha sido capaz de ir acumulando desde su inicio conceptual.*

La Biología Molecular no es simplemente la descripción de la Biología en términos moleculares, sino que surgió del encuentro de dos disciplinas fundamentales para el desarrollo de la Biología y que se desarrollaron al principio del siglo XX. Me estoy refiriendo a la Genética y a la Bioquímica. Por lo tanto no puede considerarse como una nueva disciplina sino más bien como una manera nueva de observar a los organismos vivos como entes de almacenamiento y transmisión de la información biológica.

La historia de la Biología Molecular constituye quizás una de las páginas más apasionantes de la historia de las ciencias biológicas y,

como tantas veces ocurre se ha forjado con la suma de aciertos, olvidos, casualidades y errores que se inicia al final del siglo XIX y que culmina con un nuevo paradigma de la ciencia, el paradigma del ADN.

GENÉTICA Y MEDICINA MOLECULAR

En 1865 y en el seno de la Sociedad de Naturalistas de Brno, Gregor Johann Mendel daba a conocer en dos sesiones correspondientes a los días 8 de Febrero y 8 de Marzo de ese mismo año los resultados de once años de trabajos sobre hibridación en plantas, fundamentalmente en gisantes. Dichos trabajos aparecen publicados un año después en el tomo IV de las Actas de la Sociedad y constituyen sin duda los fundamentos de la Genética.

Contemporáneo de Mendel destacaba la figura de Charles Darwin que en 1859, seis años antes de que Mendel diera a conocer su teoría de la herencia, publicó su libro *El Origen de las Especies* que es sin duda para algunos historiadores el primer paso desde el que se inicia la revolución de la Biología que acabaría finalmente con el establecimiento de la estructura del ADN por Watson y Crick.

En este sentido es muy interesante destacar lo que en la introducción de su trabajo decía Mendel: *En realidad, requiere cierto ánimo emprender un trabajo tan extenso: no obstante, hacerlo parece ser la única vía buena para alcanzar finalmente la solución de una cuestión de tanta importancia en relación con la historia de la evolución de los seres vivos.*

Por lo tanto, el motivo y lo que originó las investigaciones de Mendel fue el resolver un problema de tipo evolutivo con el objeto de dar una explicación a lo que por entonces era controvertido, esto es, si pueden aparecer en la evolución nuevas especies por hibridación de otras preexistentes, tratando de esta manera de dilucidar con sus experiencias entre las ideas evolucionistas representadas por su profesor en la Universidad de Viena Franz Unger y las teorías fijistas de los hibridistas experimentales como Kölreuter y Gärdner (Lacadena, 1985).

Uno de los méritos indiscutibles de los trabajos de Mendel, quizás más importante que el problema científico que trató de resolver, fue su idea genial sobre la *herencia particulada* que la basó en la

existencia de unidades discretas de la herencia o unidades hereditarias.

El trabajo de Mendel no se reconoció hasta principios del siglo XX, cuando 35 años después Hugo de Vries, Erich von Tschermak y Carl Correns publican en 1900 un trabajo que confirma los resultados obtenidos previamente por Mendel. En este trabajo se hizo referencia a la existencia de un factor que denominó *pangenes* de naturaleza idéntica al factor de la herencia particulada de Mendel. Nueve años más tarde Wilhelm Johanson acertó el término y bautizó al factor que representa las unidades discretas de la herencia como *genes*.

Muy cerca de Brno y por aquella época Friedrich Miesher realizaba experimentos en el laboratorio de Hoppe-Seyler en la Universidad de Tübingen dando lugar a una publicación en el año 1871 donde se describía la existencia en los núcleos de las células del pus y otros tipos de células de una sustancia rica en fósforo y de naturaleza ácida que denominó, al estilo a como se nombran las nuevas sustancias descubiertas en Bioquímica, nucleína, aunque más tarde fue rebautizada por Richard Altmann en 1889 como *ácido nucleico*.

Los trabajos de Mendel y de Miesher tuvieron en común que fueron olvidados por los científicos de su tiempo aunque, el trabajo de Mendel tras un periodo de oscuridad de 35 años dio lugar a una enorme actividad científica que condujo al desarrollo de la teoría cromosómica de la herencia, sin embargo la respuesta a la pregunta sobre cual era la base molecular del fenómeno de la herencia tardó más tiempo en ser contestada a pesar de los trabajos de Miesher quién manifestó en 1893: *La continuidad reside no solamente en la forma sino más profundamente en la molécula química. Reside en la estructuración de los grupos atómicos. En este sentido soy partidario de la teoría química de la herencia.*

Los historiadores todavía discuten las razones por las que tardó 35 años en aceptarse los trabajos de Mendel puesto que, aunque fueron publicados en una revista de escasa difusión, se estima que al menos circularon 140 copias de dicho trabajo por toda Europa. Es posible que el concepto y la noción abstracta que tenía Mendel de los genes no se apreciara suficientemente por los naturalistas de su tiempo.

Una de las causas que más contribuyó sin duda a la expansión de las teorías de Mendel fue el desarrollo de la teoría cromosómica de la herencia. Durante los años 1880 se produjeron los hallazgos claves en el campo de la Biología Celular que supusieron la aceptación de la existencia de un contexto físico que daba explicación a los trabajos más abstractos de Mendel. Se conocieron muchos detalles acerca de la estructura del núcleo celular gracias a los experimentos realizados por una larga lista de biólogos entre los que destacaron Schleiden, Schwann, Nägeli o Virchow entre otros, detectándose unas estructuras en el núcleo que se teñían de oscuro con anilina y que Waldeyer en 1880 denominó *cromosomas* por su capacidad de teñirse por colorantes básicos, demostrándose que el número de cromosomas era diferente según fuese el organismo estudiado, sugiriéndose en consecuencia que los cromosomas podrían portar información específica para cada forma de vida. En 1882 Walther Flemming describió el proceso de la mitosis, la duplicación y el movimiento de los cromosomas que ocurre durante la división celular. Con tales acontecimientos científicos los genetista se encontraron con un bagaje suficiente con el que retomar los trabajos de Hugo de Vries.

Theodor Boveri y el estudiante de la Universidad de Columbia Walter Sutton relacionaron por primera vez en 1902 el fenómeno de la herencia con el comportamiento de los cromosomas. Tres años después Nettie Stevens y Edmund Wilson, estudiando de forma independiente el comportamiento de los cromosomas sexuales suministraron la primera evidencia directa que apoyaba la teoría cromosómica de la herencia.

La expansión de la Genética está estrechamente relacionada con la elección de la mosca de la fruta *Drosophila* como organismo modelo para estudios genéticos. El biólogo americano Thomas H. Morgan y sus colaboradores en la Universidad de Columbia utilizaron este organismo para sus experiencias debido a su rápida reproducción (Morgan *et al*, 1915).

Con los trabajos de Morgan se inicia en el sentir de Laín Entralgo lo que en la historia de la Genética ya es más que historia, es presente vivo. Morgan y sus colaboradores reunieron un número considerables de datos de *Drosophila*. Localizaron diversos genes en cromoso-

mas específicos y estudiaron hasta el más pequeño detalle la frecuencia de las diferentes formas de los genes y el efecto de la posición de estos en los cromosomas (Allen, 1978), sin embargo ignoraron dos problemas esenciales: la naturaleza de los genes y su mecanismo de acción. Los genetistas estudiaban los genes sin estar aparentemente interesados en como funcionaban y cual era su naturaleza química.

Hermann J. Muller, uno de los estudiantes de Morgan, fue sin embargo el único que en aquel tiempo se interesó por estas cuestiones. Para Muller los genes eran la base de la vida, el lugar donde se ocultan los secretos de la vida. En 1927 descubrió los efectos mutagénicos de los rayos X (Muller, 1927), justamente cuando unos pocos años antes la transmutación de los elementos químicos formulada por Rutherford abrió el camino para comprender el núcleo atómico.

Muller estaba particularmente interesado en los trabajos de Max Delbrück que por entonces estaba intentando definir las propiedades de los genes estudiando las variaciones en la proporción de las mutaciones producidas en función de la energía de radiación.

La historia de las investigaciones de Delbrück, hijo de un profesor de historia en la Universidad de Berlín, es un interesante ejemplo de la influencia que la ciencia de la Física tuvo en el posterior desarrollo de la Biología Molecular.

Delbrück se doctoró en Física Teórica trasladándose posteriormente a Copenhagen al laboratorio de Niels Bohr con una beca de la fundación Rockefeller. Su encuentro con Bohr ejerció una influencia decisiva que hizo que dirigiera sus investigaciones al campo de la Biología. De vuelta a Berlín formó un pequeño grupo de biólogos y físicos llevando a cabo su primera investigación en el campo de la Biología en colaboración con el biólogo ruso Nikolai Timofeeff-Resousky y el físico alemán Karl Zimmer publicándose su trabajo en el año 1935 (Timofeeff and Zimmer, 1935).

La idea que latía detrás de este estudio se tomó de los físicos nucleares. El núcleo atómico no se podía estudiar directamente sino que era necesario bombardearlo con partículas. Variando el tamaño y energía de estas partículas y comparándolas con los resultados del bombardeo se podía deducir algunas de las propiedades del núcleo atómico. Delbrück decidió utilizar la misma estrategia para el estu-

dio de los genes. Como se conocía por los trabajos de Muller que las mutaciones se pueden inducir por irradiación con rayos X, Delbrück y su equipo de físicos y biólogos determinaron el número de mutaciones inducidas en *Drosophila* tras irradiación con diferentes energías producidas a diferentes temperaturas. En base a estas experiencias se estimó que el tamaño del gen sería de unas pocas milésimas de milímetro. Las variaciones existentes en la proporción de mutaciones en función de la temperatura se interpretó en términos de un modelo cuántico del gen, de acuerdo con lo cual el gen tendría diversos estados estables de energía, igual que una molécula, y la mutación se interpretó como el paso de un estado estable a otro. El trabajo se publicó en 1935 en una revista alemana de escasa difusión y se conoció como el *Three-Man-Paper* (Manchester, 1996).

El trabajo llamo la atención de Schrödinger quien le dedicó un considerable espacio en su libro *What Is Life* (Schrödinger, 1944) y de Salvador Luria, físico que trabajaba en aquel tiempo en Roma en el laboratorio de Enrico Fermi y que más tarde colaboró con Delbrück.

Otros muchos grupos de investigación usaron aproximaciones experimentales similares para estudiar la estructura de los genes y la naturaleza de las mutaciones, sin embargo, en ausencia de cualquier otro dato sobre la naturaleza química de los mismos los resultados fueron difíciles de interpretar.

En este sentido resulta esclarecedor lo que Salvador Luria puntualizó a este respecto: *La investigación sobre los genes mediante medios físicos es como si alguien disparara a un árbol con balas de diferente calibre en orden a averiguar la clase de fruta del árbol. Dependiendo de la efectividad y del calibre de la bala se puede deducir si la fruta es del tamaño de una cereza o del tamaño de una manzana. Sin embargo, si se quiere progresar no es suficiente con disparar al árbol. La fruta debe ser aislada y caracterizada.*

A pesar de esto y de que el modelo de Delbrück de la mutación por ionización se mostró posteriormente como erróneo, este tipo de estudio y otros similares abrieron un camino que indicaba que los genes podían estudiarse con métodos físicos.

Independientemente de los resultados obtenidos de las investigaciones de Delbrück, es pertinente destacar que su actividad como

científico tuvo una decisiva influencia como fundador e impulsor de lo que se ha denominado el *Grupo Fago*, término usado para referirse a todos los científicos que entre los años 1940-1960 usaron bacteriófagos para estudiar la función de los organismos vivos. Las investigaciones llevadas a cabo por este grupo fueron de las más diversas, introduciéndose nuevas aproximaciones experimentales al estudio de los problemas biológicos por científicos entrenados tanto en el campo de la biología como de la física.

Volviendo hacia atrás en los orígenes de la genética, hay que resaltar que existía un buen número de resultados que sugerían la conexión entre los genes y las reacciones químicas que se producen en los organismos vivos. La primera relación precisa entre genes y metabolismo se describió en 1902 por Archibald Garrod en su libro *The Inborn Errors of Metabolism* donde se señala la naturaleza exacta del desorden que sufren los pacientes con alcaptonuria, atribuyendo la causa de esta enfermedad a un defecto del enzima que interviene en la ruptura del anillo de benceno en el metabolismo del ácido homogentísico.

Estos resultados junto con los obtenidos por Muriel Wheldale sobre pigmentos en plantas, los de Fritz von Wettstein, sobre el color de los ojos de la mariposa *Ephestia Kuhnella* y sobre todo con los obtenidos por Boris Ephrussi y George Beadle trabajando en el laboratorio de Thomas Morgan, sugerían la existencia de una relación entre genes y enzimas. George Beadle estaba convencido de que la síntesis de los pigmentos de los ojos de *Drosophila* era resultado de una serie de reacciones catalizadas por diferentes enzimas que a su vez estaban controladas por genes. La complejidad química de este sistema hizo difícil, si no imposible, transformar las convicciones científicas de Beadle en pruebas. Por esta razón eligió un organismo diferente que permitiera ser estudiado genéticamente y al mismo tiempo permitiera llevar a cabo una investigación bioquímica más simple. Con este propósito empezó a trabajar con el hongo *Neurospora Crassa* que había sido previamente analizado genéticamente por el grupo de Morgan. Para llevar a cabo la nueva estrategia de investigación Beadle se asoció con Edwar Tatum por la experiencia y el conocimiento que tenía acerca de las condiciones requeridas para el crecimiento de microorganismos (Beadle and Tatum, 1941).

La irradiación de *neurospora*, con objeto de producir un gran número de mutaciones, desveló que existían mutantes incapaces de sintetizar triptófano estableciéndose que cada paso de la biosíntesis del aminoácido se controlaba por diferentes genes. Estos resultados se recibieron entusiastamente por la comunidad científica. Beadle fue elegido en el año 1944 miembro de la Academia Nacional de Ciencias y junto con Tatum y Lederberg obtuvo el premio Nobel de Medicina en el año 1958.

Los trabajos de Beadle y Tatum supusieron la asociación experimental de la Bioquímica y la Genética y, junto con otros trabajos que usaron la misma aproximación experimental demostraban que cada paso en una ruta metabólica se controla por un gen. Puesto que cada reacción química de una ruta metabólica está catalizada por una enzima le llevaron en 1941 a formular la hipótesis un gen-un enzima. Más tarde se conocería que la estructura de las proteínas y por lo tanto de los enzimas está codificada por un gen y por lo tanto la hipótesis un gen-un enzima se amplió a la de un gen-una proteína.

En el discurso de recepción del premio Nobel Beadle hizo justicia con Garrod diciendo: *Primero en Drosophila y luego en Neurospora, nosotros hemos descubierto lo que Garrod había visto tan claramente hace tantos años.*

Tres años después de que Beadle y Tatum enunciaran su teoría, se produjeron una serie de acontecimientos científicos que conducirían al definitivo establecimiento de la base molecular de la herencia anunciada tanto tiempo atrás por Mendel.

En una serie de experimentos con *Diplococcus pneumoniae* el microbiólogo inglés Fred Griffith descubrió el modelo que suministró la clave que hizo posible el desarrollo final de la Biología Molecular estudiando el fenómeno de la transformación bacteriana en 1928. Durante la siguiente década Oswald T. Avery, en el Instituto Rockefeller, estudió extensamente el fenómeno de la transformación bacteriana. En colaboración con Colin MacLeod y Maclyn McCarty, Avery intentó purificar el factor responsable de la transformación bacteriana publicando en 1944 un artículo en *Journal of Experimental Medicine* en el que se sugería que la fracción activa de dicho factor era ADN. El trabajo de Avery y colaboradores debió tener un

impacto definitivo en la comunidad científica de su tiempo y aceptarse que la molécula de ADN realmente era la molécula de la herencia. Sin embargo esto no ocurrió.

Se ha querido dar una explicación a esta circunstancia basándose entre otras razones a que la revista *Journal of Experimental Medicine* estaba dedicada a la publicación de trabajos de fisiología y patología más que a trabajos relacionados estrictamente con la bioquímica o la genética. Es más, el título y el resumen del artículo de Avery se centraban más en el fenómeno de la transformación bacteriana que en la naturaleza del factor de transformación. No obstante, el trabajo de Avery no fue en modo alguno desconocido, de hecho su descubrimiento se popularizó por una revista de amplia difusión como el *American Scientist*. Los resultados de Avery se reconocieron como muy importantes aunque presentaban una serie de problemas que hizo difícil que se apreciaran en su importancia real.

Max Delbrück llegó a decir de los resultados obtenidos por Avery: *You really did not know what to do with it* (Realmente usted no sabe que hacer con ellos). Este comentario revela el estado de conocimiento de aquel tiempo. La transformación bacteriana era un fenómeno nuevo que parecía que se limitaba al neumococo, es más, esta bacteria en términos bioquímicos era poco conocida e incluso no se aceptaba universalmente la existencia de genes en bacterias (Jacob, 1974). El bioquímico inglés Sir. Cyril Hinshelwood pensaba que las propiedades de las bacterias, incluyendo la adaptación y la mutación podrían ser explicadas por cambios en el equilibrio químico (Hinshelwood, 1946).

Además de estas dificultades y de la ignorancia que se tenía acerca de la estructura y propiedades de los ácidos nucleicos, quizás la circunstancia que más contribuyó al retraso que sufrió la aceptación de los resultados de Avery en el sentido que el ADN era el material genético fue debido a la idea que entonces se tenía y, que Avery compartía, de que las proteínas eran las moléculas responsables de la especificidad genética.

La molécula que funcione como patrón de la herencia debería tener capacidad de almacenar en su estructura molecular grandes cantidades de información genética. Comparada con las proteínas la molécula de

ADN parecía que no tenía la capacidad para ser una molécula inteligente. La información genética tiene que estar relacionada con un lenguaje y el que se podía deducir de la molécula de ADN era muy inferior al de las proteínas, estas podían aportar un alfabeto de 20 letras mientras que el ADN sólo podía aportar 4 letras.

Otro acontecimiento que se produjo en la investigación en química contribuyó también a que no se diera la importancia que realmente tenía los trabajos de Avery. Aunque se conocía que el ADN era una molécula muy grande se creía que era simplemente un polímero incapaz de almacenar información. Esta interpretación se basó sin duda en la hipótesis del tetranucleótido propuesta por Levene en el Instituto Rockefeller. Levene era un químico que se dejó influir por el triunfo de la química de los polímeros, compuestos formados por la repetición de pequeñas unidades, y que tanto éxito tuvieron en el campo de la química industrial con la producción de materiales tales como el poliacetato o poliestireno. Por lo tanto, es fácil entender que se asumiera que el ADN era un polímero regular formado de unidades repetidas de nucleótidos.

Muchos científicos de la época se dejaron arrebatar por estas ideas e incluso llegaron a cuestionar el trabajo de Avery sugiriendo que la naturaleza química del factor transformador podía estar formado exclusivamente de proteínas y que el ADN detectado por Avery pudo ser debido a problemas técnicos de contaminación.

Ocho años después el problema quedó resuelto. Realmente el ADN es la molécula que daba una explicación química el fenómeno de la herencia.

En 1952 Alfred Hershey y su ayudante Martha Chase establecieron definitivamente la conexión existente entre ADN y herencia gracias a una aproximación experimental que en los experimentos de Avery no se realizó.

El denominado grupo fago creció de manera espectacular reuniendo a un importante número de científicos entrenados tanto en el campo de la Biología como el de la Física debido a la influencia sin duda de la personalidad de Delbrück.

Los físicos contribuyeron de manera decisiva al desarrollo de la nueva biología a través de la síntesis de moléculas radiactivas que se comportaban químicamente como moléculas normales pero que podían dis-

tingirse mediante criterios físicos como la masa o la radioactividad. Detectando estas diferencias resultaba relativamente fácil seguir su pista en experiencias tanto *in vitro* como *in vivo*. Una de las diferencias fundamental en los experimentos de Avery en relación con los de Hershey-Chase fue que estos últimos usaron moléculas radiactivas que les permitió distinguir entre la molécula de ADN y la de las proteínas.

Esta no fue la única contribución de la Física al desarrollo de la nueva Biología. La cromatografía de partición, de intercambio iónico o de afinidad, la ultracentrifugación, la electroforesis, la espectroscopia o la microscopia electrónica contribuyeron de manera decisiva al desarrollo y al crecimiento de la Biología Molecular.

Con estos antecedentes y centrados ya en la primera mitad del siglo XX se iba a producir el acontecimiento científico sin duda más trascendente del siglo, me estoy refiriendo al descubrimiento de la estructura del ADN en el año 1953 por Watson y Crick, molécula que fue descubierta, ironías de la vida, en el año 1869 diez años después de la publicación del origen de las especies por Darwin y sólo cuatro años después de los experimentos de Mendel.

El descubrimiento de la estructura del ADN se produjo por el feliz encuentro de dos personalidades extraordinarias que provenían de campos científicos muy alejados pero que fueron capaces de complementarse.

Crick era un físico que inició sus investigaciones en el University College de Londres estudiando la viscosidad del agua calentada a altas presiones. Estando trabajando para el Almirantazgo en el desarrollo de minas magnéticas durante la segunda guerra mundial, decidió en 1945 dirigir sus investigaciones al campo de la biología. En el Medical Research Council empezó a estudiar el movimiento de pequeñas partículas magnéticas en células, lo que le permitió conocer que existía un grupo de investigación en el Cavendish Laboratory de la Universidad de Cambridge. El grupo estaba dirigido por Max Perutz y supervisado por Sir. Lawrence Bragg y se investigaba en la descripción de la estructura de proteínas usando difracción de rayos X. Crick solicitó incorporarse a este grupo consiguiendo su deseo.

Antes de la segunda guerra mundial el grupo de Bragg en Inglaterra y el de Linus Pauling en California habían demostrado que se

podía deducir la estructura tridimensional de moléculas en estado cristalino por difracción de rayos X. La idea de Bragg era poder estudiar moléculas más complejas y demostrar que la técnica de difracción de rayos X podía aplicarse en la determinación de estructura de moléculas tan complejas como las proteínas. La estancia de Crick en el Cavendish Laboratory le permitió familiarizarse con las complicadas técnicas del análisis de las imágenes obtenidas por difracción de rayos X.

James D. Watson, un brillante estudiante que acabó sus estudios en biología a una edad temprana, fue el primer alumno de Luria. En su tesis doctoral estudió el efecto de los rayos X en el desarrollo de bacteriófagos, obteniendo datos difíciles de interpretar. Tanto Luria como Watson estaban convencidos que para poder interpretar correctamente los resultados sobre fagos era necesario conocer los constituyentes químicos de los mismos y más concretamente del ADN. Es importante resaltar en este momento que el final de los estudios de doctorado de Watson se adelantó sólo dos años a los experimentos de Hershey-Chase, que como hemos expuesto previamente demostraban de forma definitiva la conexión entre el ADN y la herencia.

Luria y Delbrück tenían la idea de que la ciencia en Europa era más imaginativa que en América y pensaron que para un joven investigador tan brillante como Watson sería ideal realizar estudios postdoctorales en Europa. Luria decidió enviar a Watson a Copenhague a trabajar con Herman Kalckar un especialista en el metabolismo de los aminoácidos.

La estancia de Watson en el laboratorio de Kalckar no fue productiva desde un punto de vista científico, aunque como tantas veces ocurre en la vida le dio la oportunidad de encontrar el camino que le conduciría a la gloria.

Con motivo de una visita a la Estación Zoológica de Nápoles, asistió con Kalckar casi por accidente a una conferencia pronunciada por Maurice Wilkins sobre estudios de difracción de rayos X en fibras de ADN. La conferencia le apasionó y decidió prolongar su estancia en Europa pero esta vez con el propósito de trabajar en un laboratorio de cristalografía.

Con este propósito Luria contactó con John Kendrew, que por entonces trabaja con Max Perutz, quién aceptó a Watson para tra-

bajar en el laboratorio de Cavendish, la escuela británica de cristalografía sin duda la más importante del mundo. El proyecto que inició en el grupo de Perutz, que por entonces estaba estudiando la estructura de la hemoglobina estaba destinado a purificar, cristalizar y estudiar la estructura de una molécula análoga a la hemoglobina pero más simple, la mioglobina. Este proyecto nunca se llevó a cabo, aunque lo más importante que le pudo ocurrir fue su encuentro con Crick que por entonces realizaba experimentos en el laboratorio de Cavendish tratando de determinar la estructura del ADN y con el que pronto inició una estrecha colaboración. El destino había unido de esta manera dos investigadores cuya colaboración daría lugar a uno de los descubrimientos más importantes de la Biología.

Aunque el bagaje científico de ambos investigadores era diferente, sin embargo se complementaron de tal manera que Crick suministró a Watson la información necesaria con la que entender los principios y la interpretación de los resultados de la cristalografía, mientras que Watson informó a Crick sobre genética bacteriana y sobre los últimos resultados obtenidos por el grupo fago. Mientras que Crick realizaba su tesis doctoral, Watson realizaba experimentos sobre la mioglobina.

La colaboración entre Watson y Crick inauguró un nuevo estilo de investigación en el que la discusión y las teorías jugaron un papel más importante que la observación experimental. De hecho, la determinación de la estructura del ADN la establecieron sin que realizaran un solo experimento sobre su estructura. Quizás había impactado en ellos el nuevo estilo de trabajo que Delbrück introdujo en el grupo fago donde la discusión de los experimentos y de los artículos formaba parte fundamental del trabajo de un científico. La propuesta final que Watson y Crick hicieron de la estructura del ADN tuvo, no obstante, sus antecedentes científicos.

Durante la segunda guerra mundial Maurice Wilkins, que tenía como Crick una sólida formación como físico, trabaja en Berkeley en la separación de isótopos de uranio como parte del proyecto Manhattan. Igual que Crick dirigió su atención hacia la investigación biológica y después de la segunda guerra mundial empezó a estudiar fibras de ADN mediante difracción de rayos X, demostrando que el

grado de hidratación jugaba un importante papel en la estructura de la molécula de ADN.

Wilkins se unió con Rosalind Franklin, una físico-química que tenía un excelente bagaje de conocimientos sobre difracción de rayos X. La unión de estos dos investigadores parecía que reunía todos los requerimientos con los que progresar en el conocimiento en la estructura del ADN.

Cuando Rosalind Franklin llegó al laboratorio de Wilkins pensó que podría llevar a cabo su propio proyecto de investigación. Sin embargo esto no fue posible puesto que Wilkins sólo vio en Franklin a una investigadora con la única misión de suministrarle la asistencia técnica necesaria para llevar a cabo su investigación. Esta circunstancia limitó los intercambios entre los miembros del grupo y evitó que se elaborara una clara estrategia de investigación.

En una discusión informal, tras una conferencia científica pronunciada por Wilkins, se dieron a conocer datos que indujeron a Watson y a Crick a empezar a construir modelos para la estructura del ADN. Sin embargo, los trabajos que quizás influyeron en Watson y Crick de forma más decisiva fueron los llevados a cabo por Linus Pauling que había demostrado que en las macromoléculas era fundamental la existencia de una estructura en forma de hélice, entre dichas moléculas se encontraba el ADN para la que propusieron un modelo en un artículo publicado en 1953 en la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Más tarde se confirmaría que el modelo propuesto era erróneo (Pauling, 1953).

Estimulados por estos trabajos, Watson y Crick intentaron dar una explicación a la estructura del ADN proponiendo modelos de doble y triple hélices en las que las bases se situaban en el exterior de la molécula. En 1947 Gulland había sugerido que las bases en el ADN interaccionan a través de enlaces de hidrógeno, de acuerdo con lo cual Watson optó por un nuevo modelo en el que las bases se situaban en el interior de la molécula de ADN apareándose adenina con adenina y timina con timina. Este modelo se abandonó cuando Jeremy Donohue, que había trabajado con Pauling, les hizo ver que estaban eligiendo una forma tautomérica de las bases equivocada y fue entonces cuando tuvieron la idea de emparejar las bases de forma di-

ferente dándose cuenta que un emparejamiento adenina-timina y citosina-guanina poseían la misma estructura espacial y además daba explicación a la existencia en el ADN de una concentración igual de adenina y timina y de citosina y guanina, descubierta previamente por Chargaff y que hasta entonces no se había dado una explicación satisfactoria a este descubrimiento.

El resultado final del modelo que propusieron Watson y Crick, basado en resultados obtenidos por otros investigadores, se llevó a cabo debatiendo entre ellos diariamente posibles estructuras durante el almuerzo, en la hora del té, en la cena y durante largos paseos por el río Cam (Pennisi, 2003). El 28 de Febrero de 1953 Crick no pudo contener su emoción y anunció «*hemos descubierto el secreto de la vida*».

Watson y Crick escribieron rápidamente un artículo que enviaron a Nature publicándose el 25 de Abril de 1953 (Watson and Crick, 1953). Junto con este artículo se publicaron en el mismo número de la revista otros dos artículos, uno de Wilkins, Stockes y Wilson (Wilkins *et al*, 1953) y otro de Franklin y Gosling (Franklin and Gosling, 1953). Estos dos últimos artículos sólo contenían datos obtenidos en estudios en los que se utilizó la difracción de rayos X. En el artículo de Watson y Crick se proponía sin embargo un modelo de estructura de la molécula de ADN.

¿Porqué Watson y Crick resolvieron la estructura del ADN adelantándose a Rosalind Franklin cuyos datos sobre difracción de rayos X fueron clave para descubrirla? Quizás la respuesta está en que Watson, que era el único biólogo del grupo, tenía una idea muy clara de la función que tenía que cumplir esta molécula. Para los otros la molécula de ADN constituía simplemente un desafío intelectual cuya estructura necesitaba ser resuelta. Para Watson la molécula de ADN era ni más ni menos que la molécula de la vida.

Quizás menos conocida pero no de menor trascendencia es la publicación de un segundo artículo en Nature (Watson and Crick, 1953 b) ese mismo año donde Watson y Crick exponían las implicaciones funcionales que se derivan de la estructura de doble hélice del ADN, demostrando que en base a esta estructura era posible proponer un modelo simple para la replicación del ADN y así explicar el poder de autorreplicación de los genes.

Watson presentó este trabajo en el XVIII Simposio sobre Biología Cuantitativa en el Cold Spring Harbor en el verano de 1953. Max Delbrück repartió fotocopias de este trabajo a todos los participantes del congreso. El modelo de doble hélice se aceptó rápidamente por la comunidad científica que quedó fascinada por dicho descubrimiento.

En 1954 Matthew Meselson, uno de los estudiantes de Pauling, y Franklin Stahl usando ADN marcado con N¹⁵ separaron moléculas recién sintetizadas de acuerdo a su densidad publicando en 1958 un artículo donde claramente se establecía el modelo de réplica semi-conservadora del ADN (Meselson, 1958).

De esta manera se había descubierto la molécula que constituye el fundamento y el atributo esencial de los seres vivos, de aquello que definitivamente los diferencia del mundo inanimado, la molécula que hizo posible que la vida, que apareció aproximadamente hace 3500 millones de años no halla sido un acontecimiento fugaz debido a la capacidad de los organismos vivos de generar copias de sí mismos, esto es, de reproducirse y de esta manera aunque un individuo tuviera sus días contados la especie a la que pertenece perduraría. Un individuo puede morir pero la vida continuará.

Esta es la grandeza de esta molécula, esta es la grandeza de su descubrimiento que inauguró así una nueva era de la Biología y de la Medicina.

No quedaría completa la historia del descubrimiento del ADN sin hacer una referencia al trágico destino de Rosalind Franklin. Esta extraordinaria científica murió de cáncer poco antes del descubrimiento de la doble hélice no teniéndose en cuenta por los biógrafos de Watson y Crick. Algunos, la han presentado como una mujer que tuvo los problemas típicos de su tiempo y a la que se le privó del descubrimiento del ADN. Historiadores recientes de la Biología Molecular (Morange, 2000) niegan este extremo. Rosalind Franklin, que como ya hemos expuesto tuvo problemas con Maurice Wilkins, obtuvo datos que fueron realmente importantes y decisivos para el descubrimiento de la estructura de doble hélice de la molécula de ADN (Klug, 1968), sin embargo lo que si parece claro es que ella no tuvo conciencia de la importancia de esta molécula, ni siquiera sintió la necesidad de explicar la capacidad auto-replicativa de los genes en

base a su estructura. De cualquier manera en la mitología que se crea alrededor del descubrimiento del ADN, Rosalind Franklin ha representado el papel de mártir.

Paralelo a la historia del descubrimiento del ADN ocurrieron otros acontecimientos científicos que se iniciaron 35 años después del descubrimiento de Mendel y terminaron en el año 1956, tres años después del descubrimiento del ADN, y que fueron determinantes para el desarrollo de la moderna historia de la Medicina.

En 1904, el médico americano James Herrick, atendió a un paciente de raza negra de 22 años de edad que presentaba un cuadro difuso con afectación respiratoria, cardiomegalia, signos de lesión renal, ictericia y anemia. La morfología de los hematíes era anormal describiéndolos Herrick como hematíes de forma fina y alargada con aspecto de hoz y bordes redondeados. Tras un tratamiento de sostenimiento, el paciente fue dado de alta cuatro semanas después, aunque su hematíes seguían presentando una extraña forma de media luna menos apreciable que antes de su ingreso.

Herrick intrigado por la clínica y los hallazgos de laboratorio publicó seis años después la historia de este caso indicando que era difícil hacer un diagnóstico definitivo por lo que concluyó que la enfermedad no podía explicarse en base a una lesión orgánica específica, subrayando que la anormalidad del cuadro hemático era clave. Describió el caso como de glóbulos rojos anómalos alargados y en forma de hoz en un proceso de anemia grave. Sugirió que la causa de esta enfermedad podría ser debida al cambio desconocido en la composición del globo rojo. Poco después de publicar este caso se detectaron otros con idéntica clínica denominándose a esta enfermedad *Anemia Falciforme*.

La demostración posterior de que los genes controlan la naturaleza y la posición de los aminoácidos en una proteína se realizó en dos etapas separadas por un periodo de siete años. En este proceso la descripción de la Anemia Falciforme jugó un papel principal.

El primer paso se produjo en 1949, cinco años después del descubrimiento de Avery. En un artículo publicado en Science, (Pauling *et al*, 1949), Pauling demostró que el padecimiento de la Anemia Falciforme estaba relacionado con la existencia de una estructura anormal de la

hemoglobina de los hematíes que se denominó Hemoglobina S. Usando técnicas electroforéticas dedujo que la Hemoglobina S poseía un punto isoeléctrico mayor que la hemoglobina A (normal), tanto en su forma oxigenada como desoxigenada, lo que sugería la existencia de un número de grupos ionizables diferentes en ambas hemoglobinas llegando a la conclusión de que la hemoglobina S tenía entre dos y cuatro cargas positivas por molécula más que la hemoglobina normal.

Poco antes del descubrimiento de Pauling, James Neel, un especialista en genética humana de la Universidad de Michigan, había demostrado que la Anemia Falciforme era una enfermedad genética de herencia mendeliana, (Neel, 1949).

El artículo de Pauling tuvo un extraordinario impacto en la Medicina, puesto que se demostraba que la alteración de una molécula explicaba los síntomas de una enfermedad, introduciéndose por primera vez el término de enfermedad molecular. A partir de entonces la referencia a la enfermedad en términos de Patología Molecular o Medicina Molecular es habitual.

Pauling y sus colaboradores decidieron caracterizar la estructura de la Hemoglobina Falciforme aunque finalmente abandonaron este proyecto debido a que en estudios preliminares se había demostrado que tanto la Hemoglobina S como la A tenían la misma composición de aminoácidos

La segunda etapa que condujo al establecimiento de que los genes controlan la naturaleza y la posición de los aminoácidos en una cadena polipeptídica tuvo como protagonista al científico británico Vernon Ingram, que animado por la insistencia de Crick, empezó a trabajar en el Laboratorio Cavendish en Cambridge sobre la Hemoglobina S empleando la tecnología desarrollada por Sanger para el estudio de la secuencia de las proteínas.

En 1956, sólo tres años después del descubrimiento de la estructura del ADN, (Ingram, 1956), y más tarde en 1957, (Ingram, 1957), Ingram publicó dos artículos en Nature donde se demostraba que la Hemoglobina S difería de la Hemoglobina normal, A, en que la primera contenía un aminoácido valina en vez de glutámico en la posición 6 de la cadena beta dando así una explicación molecular a lo que el médico de Chicago, Herrick, había intuido en 1904.

La sustitución del aminoácido glutámico por valina determina en la hemoglobina una zona adhesiva en el exterior de la cadena beta de tal manera que cuando se encuentra en forma de desoxihemoglobina aparece una zona hidrofóbica en el acodamiento EF. Las moléculas de hemoglobina se adhieren dando lugar a la formación de grandes agregados que precipitan y deforman el hematíe. Cuando este proceso tiene lugar en un vaso estrecho este se obstruye creando una región local de baja concentración de oxígeno lo que a su vez hace disminuir la solubilidad de la hemoglobina. Todos estos fenómenos determinan los caracteres clínicos de la Anemia falciforme.

El descubrimiento de Ingram tuvo un gran impacto, no sólo para la Medicina si no para la Bioquímica, puesto que se demostraba que los genes intervienen directamente determinando la naturaleza y estructura de las proteínas.

Los acontecimientos que se iniciaron con Mendel y terminaron con Watson y Crick y los que empezando con Herrick terminaron con Ingram confluyen así en la mitad del Siglo 20 estableciendo por primera vez con claridad la existencia de una relación ADN-proteína-enfermedad, conectándose así la Biología Molecular con la Medicina. Se inicia un nuevo periodo en la historia de La Medicina coincidiendo con el nacimiento de un nuevo paradigma, el de la Medicina Molecular.

IRREVERSIBILIDAD DE LA TRANSMISIÓN DE LOS CARACTERES HEREDITARIOS

El descubrimiento de la estructura del ADN condujo a una excitante e intensa investigación biológica. Junto con los resultados obtenidos por Meselson y Stahl estableciendo un mecanismo semiconservador de la réplica del ADN, se habían sentado las bases para entender que el material genético se replicaba y pasaba de una célula a otra y que además contenía las instrucciones necesarias para la síntesis de las proteínas. Los mecanismos que subyacen a estos fenómenos se desvelaron en los siguientes años contribuyendo al nacimiento de una nueva era de la ciencia biológica, la era de la Biotecnología.

El mecanismo de la réplica del ADN se dilucidó mediante experimentos *in vitro* utilizando componentes celulares purificados parcial o totalmente, destacando en este campo, la figura de Arthur Kornberg que empezó su carrera como científico realizando estudios sobre nutrición y vitaminas. En 1945 y bajo la supervisión de Severo Ochoa purificó dos enzimas esenciales relacionados con el metabolismo energético celular y tras una corta estancia en el laboratorio de Carl Cori en San Luis regresó a Washington donde estudió un enzima responsable de la síntesis del coenzima NAD. Todos esos trabajos contribuyeron a que se familiarizara con el metabolismo de los nucleótidos.

En el año 1960, Kornberg publicó un primer artículo sobre la purificación de un enzima de *E. Coli* capaz de sintetizar ADN *in vitro* en presencia de los cuatro desoxinucleótidos trifosfato de adenina, timina, citosina y guanina y magnesio. El enzima se denominó ADN polimerasa I. En 1969 John Cairns, en el Cold Spring Harbor Laboratory, encontró un mutante de *E. Coli*, con una mutación en el gen que codificaba la ADN polimerasa, que todavía era capaz de replicar su ADN lo que condujo finalmente al descubrimiento de una nueva enzima, la ADN polimerasa III, el enzima más importante implicado en el mecanismo de la réplica del ADN.

Los descubrimientos de Kornberg, Cairns, Okazaki y otros permitieron conocer el mecanismo de la réplica del ADN, un mecanismo con un alto nivel de precisión tal que en *E. Coli* comete un error sólo en uno de cada 10^9 a 10^{10} nucleótidos adicionados gracias a complejos mecanismos de detección y reparación de errores.

El conocimiento del mecanismo de la réplica del ADN daba respuesta sólo a una de las cuestiones derivadas de la relación existente entre la estructura del ADN y su función. La cuestión más difícil de dilucidar fue determinar como la molécula de ADN puede funcionar como molde para la síntesis de tantas clases diferentes de proteínas.

Aunque al principio de las investigaciones que trataron de dar respuesta a estas cuestiones se llevaron a cabo en bacterias y bacteriófagos, sin embargo el conocimiento de que las proteínas no se pueden sintetizar directamente del ADN se obtuvo de estudios realizados en células eucariotas puesto que en estas células el ADN está

confinado en el núcleo celular, mientras que la síntesis de las proteínas se realiza en el citoplasma, por lo tanto era lícito plantearse que la información genética se debe transportar desde el ADN, en el núcleo, hasta el citoplasma a través de algún intermediario.

Hacia la mitad del Siglo XX, se estableció en el laboratorio de Paul Zamecnik que la síntesis de proteínas en hepatocitos de rata tenía lugar en el citoplasma en unos complejos moleculares compuestos de proteínas y ARN que se denominaron microsomas y más tarde ribosomas. De estos estudios se planteó la hipótesis un gen-un ribosoma-una proteína que establecía que cada gen específica la síntesis de un ribosoma que a su vez produce una proteína particular.

Muchos científicos dudaron de este modelo, planteándose la existencia de alguna molécula portadora de información capaz de transportar instrucciones desde el ADN nuclear hasta los ribosomas, lugar donde se lleva a cabo la síntesis de las proteínas.

La primera descripción clara que se hizo respecto a como la información contenida en el ADN se copia en una molécula de ARN apareció en el año 1959 en un artículo publicado por Mahlon Hoagland en *Scientific American*, (Hoagland, 1959) y aunque confundió el ADN mensajero con el ARN ribosómico, sin embargo quedó planteada en este artículo la existencia de una complementarización entre la secuencia de bases del ADN y de un ARN.

Casi simultáneamente, Nomura, Hall y Spiegelman, (Nomura *et al*, 1960), realizan en la Universidad de Illinois el primer experimento que demostraba que la secuencia de bases del ADN es complementaria a la secuencia de bases del ARN.

En este mismo año, Paul Doty, (Doty *et al*, 1960), demostró que cuando las dos hebras de ADN se separan por el calor vuelven a anillarse si se enfrían lentamente. Este descubrimiento, como se hará evidente, tuvo una gran importancia para el posterior desarrollo de la Ingeniería Genética.

Los estudios llevados a cabo por Sydney Brenner, François Jacob, y Matthew Meselson e independientemente por François Gros, James Watson, y Walter Gilbert, desterraron definitivamente la hipótesis un gen-un ribosoma al demostrar que los genes no especifican la síntesis de un ribosoma sino que el ADN se usa como molde para la síntesis

de una molécula de ARN, que se denominó ARNmensajero (ARNm), que actúa de intermediario entre el núcleo y el ribosoma.

Con estos antecedentes sólo faltaba dar respuesta a la pregunta de cómo se copia en forma de ARN la información contenida en un gen. Esto es, cuál es el mecanismo de la transcripción de la información genética.

En 1955, Marianne Grunberg-Manago y Severo Ochoa describen en la Universidad de Illinois (Grunberg-Manago and Ochoa, 1955), un enzima capaz de llevar a cabo la síntesis de ARN en ausencia de cualquier molde o patrón que se denominó polinucleótido fosforilasa. El comportamiento de este enzima no reunía los requisitos necesarios para adjudicarle la responsabilidad de llevar a cabo el proceso de la transcripción de la información. Más tarde se comprobó que este enzima cataliza la ruptura del ARN, no su síntesis. El empleo de este enzima, bajo ciertas condiciones, resultaría de enorme utilidad en el desciframiento del código genético.

En 1959, Kornberg y Severo Ochoa recibieron el premio Nobel de Medicina por sus trabajos sobre los enzimas implicados en la síntesis de polinucleótidos.

La identificación del enzima que realmente lleva a cabo la síntesis de ARN a partir de ADN se produjo en 1960 de forma independiente por Jerard Hurwitz y Samuel Weis, abriéndose definitivamente el camino que condujo al conocimiento de los mecanismos implicados en el proceso de transcripción.

Quedaba por conocer como la información contenida en los genes en forma de secuencia de nucleótidos se traducía finalmente en el ribosoma en una proteína formada por una secuencia de aminoácidos.

Después de la Segunda Guerra Mundial y con las posibilidades experimentales derivadas del uso de compuestos radiactivos se empezó a dilucidar el mecanismo de la síntesis de las proteínas. Uno de los laboratorios más activo en este campo estaba dirigido por Paul Zamecnik en Harvard (Zamecnik, 1984), (Lamberg and Zamecnick, 1960).

Tres acontecimientos científicos fueron la base sobre la que se construyeron los mecanismos de la síntesis de proteínas. 1) La localización del ribosoma como lugar donde se lleva a cabo la síntesis de proteínas,

2) La propuesta de Crick de la existencia de un ARN pequeño que desempeña el papel de adaptador que hace posible que la información genética contenida en el lenguaje de cuatro letras de la molécula de ADN se pueda traducir en el lenguaje de veinte letras de las proteínas

3) El descubrimiento por Zamecnick, Keller y Hoagland (Hoagland *et al.*, 1956), de un enzima denominado aminoacil-tRNA sintetasa responsable de la unión de un aminoácido específico a una pequeña molécula de ARN denominada ARN de transferencia (ARNt). Todos estos acontecimientos hicieron posible la identificación de las principales fases de la síntesis de proteínas. El mecanismo descrito por Zamecnick fue posteriormente mejorado por Tissieres (Tissieres *et al.*, 1960).

El escenario estaba situado para dar respuesta a la pregunta a como la información codificada en forma de secuencia de cuatro nucleótidos en la molécula de ADN se traduce en forma de secuencia de veinte aminoácidos en las proteínas. En otras palabras había que descifrar el código genético.

EL CÓDIGO GENÉTICO

El descubrimiento del código genético se llevó a cabo mediante análisis estadístico de frecuencias a la manera a como se descifran otros códigos y lenguajes en un período de tiempo comprendido entre los años 1961 y 1966. Como todo acontecimiento científico de aquella época no fue fruto del trabajo de un solo científico, aunque por encima de todos destacó la figura de Marshall Nirenberg y su grupo de investigación en el National Institute of Arthritic and Metabolic Diseases de Washington. Por sus trabajos obtuvo el premio Nobel de Medicina en el año 1968.

El biólogo alemán Johann Heinrich Matthaei, que trabajaba en el laboratorio de Nirenberg con una beca postdoctoral, inició unas investigaciones *in vitro* que posteriormente finalizó Nirenberg en las que usando ARN formado exclusivamente de nucleótidos de uracilo (poliU) con el enzima polinucleótido fosforilasa descubierto por Severo Ochoa, obtuvieron un polipéptido formado exclusivamente del aminoácido fenilalanina. Sus resultados fueron muy claros, el codón UUU

codifica al aminoácido fenilalanina. Se había identificado la primera palabra del código.

Rápidamente escribieron dos artículos que enviaron a la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences* que se publicaron en 1961 (Nirenberg and Matthaei, 1961). Antes de su publicación, estos resultados se presentaron en el V Congreso Internacional de Bioquímica celebrado en Moscú en Agosto de 1961. En aquel tiempo tanto Nirenberg como Matthaei eran unos desconocidos, e incluso el instituto donde llevaron a cabo sus experimentos no era particularmente famoso, tan es así que no se les aceptó su participación en un coloquio que se celebró en el Cold Spring Harbor en Junio de 1961.

El congreso internacional de Moscú estaba más abierto a la participación de jóvenes investigadores dándole la oportunidad a Nirenberg de presentar sus resultados en una pequeña sala con no más de 35 asistentes, uno de los cuales era Crick que fue el único que apreció la importancia de dichas investigaciones, por lo que invitó de nuevo a Nirenberg a exponer sus resultados esta vez en el auditorio principal durante el desarrollo de un simposio sobre ácidos nucleicos moderado por Crick. En esta ocasión el auditorio quedó sorprendido y entusiasmado con los resultados de Nirenberg.

Nirenberg admiraba y conocía las investigaciones de Severo Ochoa sobre el enzima polinucleótido fosforilasa y tuvo conocimiento, con ocasión de una conferencia que impartió en el Institute of Technology de Massachussets, de que en el laboratorio de Ochoa se estaban llevando a cabo experimentos sobre la incorporación de aminoácidos a proteínas utilizando ARN sintético formado de diferentes residuos de nucleótidos.

En una descripción autobiográfica publicada recientemente (Nirenberg, 2004), Nirenberg confiesa que tras su conferencia volvió a Washington muy deprimido, planteándose que o debía de competir con Ochoa o tenía que abandonar la línea de investigación emprendida. Con ocasión de una de sus visitas a Nueva York, concertó una cita con Severo Ochoa con el propósito de establecer una colaboración científica en lugar de tener que competir con él. Nirenberg relata que el encuentro con Severo Ochoa fue muy cordial, le presentó a los miembros de su equipo, le llevó a la biblioteca y le invitó a

una taza de té, pero no hubo manera de llegar a un acuerdo para establecer una colaboración científica.

Visto el fracaso de su encuentro con Severo Ochoa decidió centrarse definitivamente en las investigaciones que estaba llevando a cabo y relata que la competencia que se estableció con Severo Ochoa le estimuló para centrarse en el problema, consiguiendo de esta manera mucho más que si no hubiese existido dicha competencia.

Finalmente y con la aportación del químico Gobind Khorana (Khorana, 1968), que desarrolló un nuevo método que permitía sintetizar polirribonucleótidos con secuencias repetitivas y definidas de dos a cuatro bases, el código genético quedó definitivamente aclarado en el año 1966.

La determinación del codón AUG como señal de inicio de la síntesis de proteínas se llevó a cabo por Clark y Marcker (Clark and Marcker, 1966) y la de los codones UAA, AUG y UGA como codones de terminación por Sidney Brenner (Brenner, 1967) y Weigert y Garen (Weigert y Garen, 1965).

Una vez descifrado el código genético la pregunta que había que responder es si el código genético era universal o no. La comparación del código genético de bacterias, anfibios y mamíferos demostró que el código era realmente universal (Marshall *et al*, 1967). Estos resultados tuvieron un profundo impacto filosófico puesto que indicaban que todas las formas de vida en el planeta usan el mismo lenguaje. Es cierto que más tarde se publicó la existencia en algunos organismos de dialectos del lenguaje universal, pero en cualquier caso son pequeñas modificaciones del mismo código genético.

Se conocía la naturaleza química de los genes, la estructura molecular del ADN, la correspondencia entre genes y proteínas y el código genético, cuando los trabajos de Monod y Jacob sobre la regulación del gen que codifica el enzima β -galactosidasa en *E. Coli* supusieron el punto final que cerraba el círculo del conocimiento del intercambio de información en los organismos vivos, dando explicación al mecanismo por el que ciertas proteínas reguladoras controlan la expresión de los genes uniéndose a los mismos. Por su contribución al conocimiento de los mecanismos de regulación del control de la expresión genética François Jacob, André Lwoff y Jacques Monod recibieron en 1965 el premio Nobel de medicina.

Los acontecimientos científicos que transcurrieron desde el año 1953 con la determinación de la estructura del ADN hasta final de los 60, contribuyeron a establecer los mecanismos de la réplica, transcripción, traducción y regulación de la información genética por la que la información contenida en la molécula de ADN en forma codificada se transcribe a un ARN mensajero y finalmente se decodifica y se traduce a una proteína en el ribosoma, dando cobertura científica así a la hipótesis planteada en 1958 por Crik donde se establecía la existencia de una relación entre la ordenación de los nucleótidos en el ADN y los aminoácidos de una proteína.

Puesto que se conocía que una alteración en la estructura de las proteínas puede ser causa de una enfermedad y dado que la estructura de una proteína está determinada por la estructura de los genes entonces fue posible plantearse que conociendo los cambios que pueden producirse en los mismos se podía determinar la causa primera de una enfermedad ya que cualquier acontecimiento o manifestación posterior es secundario a la alteración genética. Sin embargo el acceso a la información contenida en los genes todavía estaba prohibido.

INGENIERÍA GENÉTICA

A partir de 1970 y durante un periodo de unos 15 años se produjeron una serie de acontecimientos científicos que transformaron la Biología Molecular desde una ciencia de la observación a una ciencia de la intervención y la acción dando lugar al nacimiento de lo que se ha denominado Ingeniería Genética, término que hace referencia a la modificación controlada y deliberada de la constitución genética de un organismo vivo, bien a través de experimentos clásicos de genética o con el uso de técnicas relacionadas con la manipulación de genes aislados y de su posterior introducción en otro organismo vivo.

Los espectaculares avances que se hicieron en este campo fueron posibles gracias al desarrollo que adquirieron ciertas técnicas que usualmente se las califica como herramientas de la Ingeniería Genética, entre las cuales se encuentran los enzimas de restricción, la clonación y la secuenciación.

El uso de los enzimas de restricción en Biología Molecular tiene su antecedente al principio de los años 1950 cuando Luria y Berdani de la Universidad de Illinois y Weigle del Instituto de Tecnología de California observaron que ciertas cepas de *E. Coli* eran resistentes a la infección de varios bacteriófagos. El fenómeno parecía que era debido a una propiedad de dichas bacterias que las capacitaban para restringir el crecimiento y replicación de ciertos fagos. En 1962, Arber en la Universidad de Génova suministró la primera evidencia de que las bacterias resistentes poseían un sistema enzimático capaz de reconocer selectivamente y destruir el ADN extraño al mismo tiempo que protegían de dicha destrucción su propio ADN.

Años después Arber por una parte y Meselson y Yuan en la Universidad de Harvard aislaron de extractos de *E. Coli* la primera endonucleasa de restricción que no tuvo valor práctico como herramienta para manipular ADN puesto que la secuencia de restricción que es reconocida por el enzima se encuentra a miles de nucleótidos del sitio de corte del ADN.

En 1970, Hamilton Smith y su estudiante Kent Wilcox en la Universidad Johns Hopkins aislaron un nuevo enzima de *Haemóphilus influenzae* denominado Hind II, que difiere fundamentalmente de las endonucleasas anteriormente descritas en que este enzima corta el ADN en una posición precisa dentro de la secuencia de reconocimiento y no a distancia como en el caso anterior.

A partir de aquí hasta la actualidad se han aislado, purificado e identificado cientos de endonucleasas de restricción diferentes que cortan la molécula de ADN reconociendo una gran variedad de secuencias diferentes y que constituyen una de los instrumentos claves con el que se ha desarrollado la Ingeniería Genética.

El experimento que realmente marcó el principio de la Ingeniería Genética se llevó a cabo en Stanford en 1972 por Jackson, Symons y Berg (Jackson *et al*, 1972), donde se describe la obtención *in vivo* de una molécula híbrida que contenía el ADN del oncogen SV40 y el ADN de una forma alterada del fago λ que previamente se había incluido en el operón galactosa de *E. Coli*.

El trabajo provocó una gran controversia debido a que muchos científicos temieron que este tipo de experiencias podrían conducir al

desarrollo de bacterias portadoras de genes cancerígenos que podrían contaminar de alguna manera a la población humana, manifestándose públicamente en una conferencia que tuvo lugar en el mes de Junio de 1973 en New Hampshire. Unos meses después Maxine Singer y Dieter Soll que estuvieron moderando dicha conferencia, publicaron una carta en Science en la que proponía la creación de un comité con el objeto de investigar las consecuencias derivadas de la manipulación genética (Singer and Soll, 1973). Por otra parte, Berg en sendas cartas enviadas a las revistas Proceeding of the National Academy of Science (Berg *et al*, 1974), y Science (Berg *et al*, 1974 b) propuso que se estableciera una moratoria parcial de tales investigaciones y la celebración de una conferencia que definiera las condiciones bajo las que estos experimentos debían de llevarse a cabo.

La conferencia tuvo lugar entre los días 24 y 27 de Febrero en Asilomar, California, llegándose a la conclusión de que los trabajos podrían continuar pero adoptando medidas de confinamiento tanto físicas como biológicas para limitar el potencial peligro de estas investigaciones.

Los científicos partidarios de estos trabajos estaban convencidos de los potenciales beneficios biológicos que se derivarían de la aplicación de estos experimentos. En 1977, prácticamente toda la comunidad científica americana manifestó su oposición a las restricciones de las investigaciones propuestas por el senador de Massachussets, Edward Kennedy.

Los primeros experimentos que se llevaron a cabo al principio de los años 70 del pasado siglo demostraban que era posible llevar a cabo una recombinación genética y que el producto de esta recombinación se podía introducir en una bacteria. No obstante, para llevar a cabo este tipo de experimentos en organismos superiores se necesitó utilizar técnicas nuevas que permitieran el aislamiento de los genes.

Con este propósito se diseñaron dos aproximaciones experimentales destinadas a la resolución de este problema. En primer lugar el grupo de Maniatis en la Universidad de Harvard (Efstratiadis *et al*, 1976) eligieron una célula en la que se pudiese llevar a cabo la síntesis de una gran cantidad de proteína, por esto trabajaron con células precursoras de hematíes donde existen altos niveles del ARN

mensajero que codifica la síntesis de hemoglobina. Una vez purificado, se transforma *in vitro* en ADN complementario (cADN) y posteriormente se inserta en un plásmido o un fago y se amplifica en una bacteria. Este método tiene dos inconvenientes: 1) Los genes obtenidos no son funcionales puesto que no poseen señales reguladoras, 2) Este procedimiento sólo puede aplicarse para aislar genes que codifican proteínas en gran cantidad.

David Hogness y su grupo (Wensink *et al*, 1974) desarrollaron otra técnica de clonaje en *Drosophila* aislando genes que codifican proteínas que se encuentran en cantidades pequeñas. El genoma completo se fragmenta de forma aleatoria con enzimas de restricción y los fragmentos resultantes se insertan en plásmidos o fagos incorporándose después en bacterias, dando lugar a una población heterogénea en la que cada bacteria contiene diferentes plásmidos que a su vez contienen diferentes partes del genoma. A esta población se le denomina librería genómica. Las librerías de genes clonados en el fago o en el plásmido se pueden expresar en la bacteria produciendo proteínas.

El desarrollo de la Ingeniería Genética corrió paralelo al desarrollo de una serie de técnicas que hicieron posible que se convirtieran finalmente en una tecnología efectiva y eficiente. Entre estas técnicas se encuentran:

1. La comercialización de un número cada vez mayor de enzimas de restricción.
2. El desarrollo de métodos mejores para la separación de fragmentos de ADN, sustituyéndose los métodos de separación por centrifugación por los de electroforesis en geles de poliacrilamida o agarosa.
3. La hibridación de los fragmentos de ADN aislados seguidos de transferencia desde el gel a membranas de nitrocelulosa.
4. El desarrollo de vectores (fagos, plásmidos o cósmidos) cada vez más efectivos conteniendo diversas secuencias de restricción que son reconocidas por diferentes enzimas de restricción.
5. Desarrollo de métodos para el clonaje, mapeo y separación de grandes fragmentos de ADN.
6. La posibilidad de disponer de métodos de secuenciación desa-

rrollados por los americanos Maxam y Gilbert (Maxam and Gilbert, 1977) y por el británico Sanger (Sanger, 1977), que permitió caracterizar los genes o los fragmentos de ADN una vez aislados y amplificados.

Con objeto de estudiar la expresión y la función de los genes de organismos superiores, una vez que han sido purificados y caracterizados, se tienen que reintegrar a las células de las que se habían extraído. Los métodos de transferencia de ADN a células y el aislamiento de estas se mejoraron en 1979 lo que propició el desarrollo de líneas celulares estables con una constitución genética modificada. Esta tecnología permitió que se pudiera llevar a cabo en 1979 y 1980 la síntesis bacteriana de insulina humana y hormona de crecimiento.

La aplicación de estas nuevas tecnologías en el diagnóstico de enfermedades, sobre todo en análisis prenatales tuvo que esperar al nacimiento de una tecnología simple pero enormemente sensible. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La técnica de PCR fue una idea original desarrollada en 1983 por Kary B. Mullis, alcanzando toda su potencialidad en 1988 cuando se sustituyó el enzima de Kornberg para la amplificación de los fragmentos de ADN por una enzima extraída de la bacteria *Thermus aquaticus* que vive en aguas a alta temperatura (Randall *et al*, 1988). Este enzima no se desnaturaliza a las temperaturas requeridas para separar las dos hebras de ADN, no siendo necesario en consecuencia añadir polimerasa al principio de cada fase de elongación lo que permitió diseñar un aparato específico, el termociclador, que se puede programar para alcanzar las temperaturas requeridas en cada una de las fases de hibridación, elongación y desnaturalización de la síntesis de las hebras de ADN.

Mullis, que se doctoró en bioquímica en 1979, recibió el premio Nobel de Medicina por el descubrimiento de esta técnica en 1993. La concesión del premio Nobel no estuvo exenta de algunas críticas ya que se entendía que la PCR era simplemente una técnica sin la riqueza intelectual que es de esperarse de un trabajo merecedor de este premio. En contra de estas críticas hay que reconocer que esta téc-

nica ha revolucionado y cambiado como ninguna otra el trabajo de los biólogos moleculares y sobre todo si es que es tan simple ¿por qué no se descubrió antes?

Mediante la técnica de PCR se puede amplificar virtualmente cualquier fragmento de ADN aunque se encuentre en las muestras a analizar en trazas e incluso se puede aplicar en muestras de ADN de organismos vivos de cientos de años de antigüedad. Esta técnica ha permitido llevar a cabo diagnóstico genético prenatal o pre-implantación, así como la detección y el seguimiento de enfermedades de origen infeccioso producidas por bacterias o virus (Eirilch *et al*, 1991).

Los grandes avances científicos que se produjeron en la segunda mitad del siglo XX se debieron sin duda al ambiente intelectual, a la masa crítica de los equipos de investigación, a la motivación de los investigadores y sin duda al desarrollo de métodos simples pero muy eficientes con los que estudiar los organismos vivos a nivel celular y molecular. Sin embargo, la realización de un proyecto de investigación en este tiempo no puede consistir sólo en la utilización de un saber o en el simple empleo de la ingeniosidad y el buen sentido. Nada se hubiese logrado sin que se hubiesen desarrollado además programas específicos de financiación de la investigación tanto públicos como privados. En los Estados Unidos, en contraste con Europa, la financiación privada jugó un importante papel en el desarrollo de la ciencia, destacando la Fundación Rockefeller que sólo en la primera mitad del siglo XX había contribuido financiando proyectos de investigación en el campo de la Biología Molecular con más de 25 millones de dólares.

EL PROYECTO GENOMA HUMANO

La disponibilidad de las nuevas técnicas y herramientas de la Biología Molecular, la imaginación y osadía de los investigadores y la necesidad de abordar los estudios genéticos a través de nuevas aproximaciones condujo a mitad de los años 80 del pasado siglo a proponerse un proyecto que diera como resultado el conocimiento de la estructura de todos los genes humanos y establecer el orden de los tres mil millones de base que lo constituyen.

El comienzo oficial de este proyecto fue el 1 de Octubre de 1990, sin embargo el proceso administrativo e intelectual responsable del mismo se inició unos años antes. En 1985 se celebró una conferencia en Santa Cruz con el objeto de estudiar la viabilidad de llevar a cabo la secuencia completa del genoma humano. De Lisi (De Lisi, 1988) mantuvo contactos con el Departamento de Energía de los Estados Unidos donde se discutieron las ventajas que podrían derivarse de la secuenciación del genoma con el propósito inicial de estudiar las mutaciones producidas en el ADN de los supervivientes afectados por la bomba atómica.

Uno de los investigadores que más influyó para que el proyecto fuera finalmente una realidad fue el premio Nobel de Medicina Renato Dulbeco (Dulbeco, 1986) que por entonces estudiaba el cáncer de mama en ratas inducido por agentes químicos, interesándose de forma particular en la evolución hacia la malignidad, problema fundamental en oncología. Se sabía que la transformación y progresión tumoral se relacionaba con la acumulación de alteraciones genéticas y por lo tanto sintió la necesidad de abordar este problema con una nueva aproximación experimental que permitiera identificar los genes en primer lugar y después determinar su función.

Con esta idea en mente propuso a la comunidad científica en 1985 y 1986, primero en una serie de seminarios y después en un artículo publicado en Science la conveniencia de llevar a cabo este magno proyecto. La propuesta no estuvo exenta de controversias por parte de la comunidad científica, algunos de cuyos miembros puntualizaban que la investigación biológica en el pasado prosperó gracias al desarrollo de proyectos de investigación de bajo costo, mientras que el proyecto de descifrar el genoma humano suponía un enorme esfuerzo, excesivamente costoso y en el que la libertad del investigador quedaba limitada.

En 1988, se publicaron dos artículos que tuvieron una influencia decisiva sobre el futuro del proyecto genoma humano, uno del Committee on Mapping and Sequencing the Human Genome del National Research Council (National Research Council, 1988) y otro del Congress Office of Technology Assessment (Office of Technology Assessment, 1988) de los Estados Unidos.

Ese mismo año se crea la Office of Human Genome Research en el National Institute of Health (NIH) bajo la dirección de James

Watson. Más tarde esta oficina se convirtió en el Nacional Center for Human Genome Research.

Con el apoyo del NIH y del Departamento de Energía de los Estados Unidos nace oficialmente el 1 de Octubre de 1990 el Proyecto Genoma Humano.

Aunque el proyecto nace en los Estados Unidos, se hace internacional sumándose a los esfuerzos americanos organizaciones de Inglaterra, Francia, Italia, Canadá y Japón constituyéndose así en un ejemplo de colaboración científica internacional nunca antes alcanzado.

En 1998, se concibió un segundo proyecto por la compañía americana de biotecnología Celera Genomics. Ambos proyectos se llevaron inicialmente a cabo de forma independiente, se completaron en el año 2001 y se publicaron respectivamente en las revistas Nature (International, 2001) y Science (Venter, 2001) de ese mismo año. Parte del éxito de estos proyectos se ha basado en el desarrollo informático capaz de almacenar y analizar la compleja y tremenda cantidad de información que generan.

La versión actual del genoma humano comprende cerca de 3 Giga bases que cubren el 99% de la eucromatina y por lo tanto constituyen una referencia de alta calidad para el desarrollo de futuros trabajos de investigación. Queda aún sin conocer una pequeña parte del genoma humano que está formada de secuencias altamente repetitivas de heterocromatina además de unos pocos huecos en la eucromatina, muchos de los cuales se cree que están compuestos de secuencias repetitivas ricas en contenido CG.

La secuencia completa del genoma humano contiene unos 30.000 genes que codifican alrededor de 100.000 proteínas y por lo tanto el dogma un gen-una proteína ha tenido que ser abandonado. La diferencia entre el número de genes y las proteínas que codifican se justifica por la presencia de procesos alternativos de eliminación de intrones en la formación de ARN mensajero y por fenómenos epigenéticos basados en mecanismos que modifican la expresión pero no la información genética.

Una característica de relevancia médica y social del genoma humano reside en que dos individuos no emparentados comparten el 99.9% de la secuencia del ADN, pero dado que está formada de 3000

millones de pares de bases la diferencia de 0.1% significa una diferencia entre los individuos de varios millones de bases. Estas variantes son polimorfismos de un único nucleótido, marcadores de la diversidad biológica.

La publicación de la secuencia del genoma humano se considera como el acontecimiento de mayor trascendencia de la Biología desde el descubrimiento en 1953 de la estructura del ADN. Este reconocimiento se hizo patente en una publicación en la revista Science de la compañía Celera Genomics que empezaba el artículo con un relato breve de la historia de este proyecto donde se mencionaba el descubrimiento de Watson y Crick.

Se había iniciado una nueva era de la Biología denominada por algunos como la Nueva Genética. Se había pasado en un periodo de 50 años de conocerse la estructura de la molécula de la vida a poder abrirse lo que algunos han denominado el Libro de la Vida (Kay, 2000).

El conocimiento de la secuencia del genoma humano ha contribuido como ningún otro acontecimiento científico al conocimiento de la estructura de los genes responsables de las enfermedades, al establecimiento y clasificación de los mecanismos de las enfermedades de origen genético, al desarrollo de nuevas técnicas diagnósticas y ha abierto las puertas a la investigación de nuevas estrategias terapéuticas así como al descubrimiento y al control de las causas de algunos aspectos de nuestras vidas, todavía impredecibles, como son algunas de las características de nuestra personalidad tales como la inteligencia o la agresividad.

MEDICINA GENÓMICA

En los comienzos del siglo XXI la Genómica, y las disciplinas derivadas de mayor relevancia clínica como la Toxigenómica, Farmacogenómica o la Ecogenómica influirán en el mantenimiento de la salud más que lo hizo la bacteriología o la anestesia al principio del último siglo. Hoy día, prácticamente todas las especialidades médicas necesitan conocer estos nuevos conceptos para poder llevar a cabo una buena práctica de la Medicina.

Con independencia de su papel en la conservación y promoción de la salud, la Medicina tiene una importante misión en la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades.

Del mismo modo que cuando se conoció el papel que los microorganismos tenían en la etiología y patogénesis de la enfermedad revolucionó la práctica de la medicina, el creciente cúmulo de conocimientos que se está produciendo en la comprensión de la vida a nivel molecular y sobre el papel que los genes y sus productos de expresión tienen sobre la etiología y la patogénesis de muchas enfermedades está transformando la práctica de la moderna medicina, al mismo tiempo que las nuevas técnicas de investigación desarrolladas por el proyecto genoma humano ofrecen oportunidades sin precedentes para el estudio de la biología humana y de las enfermedades por vías completamente nuevas.

En la actualidad, se estima que entre un 6% a un 8% de las enfermedades que cursan en niños hospitalizados son atribuibles a alteraciones producidas en un solo gen, un 2.5% a alteraciones cromosómicas y entre un 20-30% a otros procesos de influencia genética (Baird *et al*, 1988). Un 6% de individuos menores de 25 años padecen una enfermedad con un componente genético debido a alteraciones producidas en un solo gen o a alteraciones cromosómicas y, si se incluyen las enfermedades producidas por alteraciones en más de un gen el porcentaje sube hasta más de un 60%. Igualmente se sabe que los individuos menores de 50 años con una alteración genética tienen un riesgo relativo de muerte prematura dos veces mayor que los que no la tienen. (Sorensen *et al*, 1988).

Hoy se conocen más de cinco mil enfermedades causadas por una alteración genética entre las que, sólo por citar algunas, se encuentran el Síndrome X frágil, Hiperuricemia, Artritis Gotosa, Inmunodeficiencias, Hipercolesterolemia, Porfiria, Alteraciones del metabolismo de la bilirrubina, Hemocromatosis, Hemoglobinopatías, Hiperplasia Suprarrenal Congénita, Pseudohipoparatiroidismo, Hemofilia, Enfermedad de Von Willebrand, Síndrome Renal de Fanconi, Fibrosis Quística, Enfermedades del colágeno, Distrofias Musculares, Rinitis Pigmentosa, Corea de Huntington, así como otras enfermedades cuya causa es debida a la alteración de más de un gen tales como la

Diabetes, Obesidad, Hipertensión, Esquizofrenia, o el Cáncer. Por lo tanto la creencia de que las enfermedades genéticas son enfermedades raras, hoy día no se sostiene.

En la actualidad es posible conocer las diferencias entre un gen normal y el gen responsable de una enfermedad, lo que ha permitido diseñar pruebas específicas que detectan estas diferencias y así poder diagnosticar a nivel molecular la enfermedad. Recientemente el análisis de los fragmentos de ADN mediante PCR se puede automatizar gracias a una nueva tecnología basada en la detección de la fluorescencia de los fragmentos amplificados y de su posterior separación mediante electroforesis capilar. La combinación de las tecnologías PCR/FDAT (Fluorescence Based DNA Analysis Technology), ofrece el potencial suficiente para automatizar y caracterizar a bajo costo las mutaciones genéticas. El uso de estas tecnologías tiene ventajas sobre cualquier otra prueba diagnóstica, puesto que el conocimiento de la secuencia específica del gen responsable de una enfermedad es el indicador principal de la misma, ya que cualquier manifestación posterior es secundaria a la alteración genética.

La importancia que la Medicina Genómica tiene en relación con el diagnóstico, la prevención y el cuidado del enfermo afecto de una enfermedad producida por la alteración en un solo gen se hará evidente con el estudio de cinco enfermedades de tanta significación como la Hemocromatosis, Fibrosis Quística, Distrofia Muscular de Duchenne, y Corea de Huntington.

La Hemocromatosis Hereditaria es una de las enfermedades genéticas más frecuentes en la población europea y afecta a uno de cada 200-300 individuos nacidos vivos. En 1996, se descubrió el gen HFE (Feder *et al*, 1996), responsable de esta enfermedad, que codifica una proteína de membrana de 343 residuos semejante a la del Complejo Mayor de Histocompatibilidad de Clase I, tanto en secuencia como en estructura. La proteína HFE forma un complejo físico con la Beta-2-microglobulina, siendo necesaria esta asociación para la correcta presentación de la proteína en la superficie celular. La proteína regula la captación de hierro mediante un mecanismo que implica la unión con el receptor de membrana de la transferrina.

Se han descrito diversas mutaciones en el gen HFE responsables de la Hemocromatosis Hereditaria. La más común es una transición G-A en el nucleótido 845 que produce la sustitución de una cisteína por una tirosina en la posición aminoacídica 282 (C282Y). Esta alteración impide la formación de un enlace bisulfuro en el dominio alfa 3 alterándose el plegamiento de la misma y por consiguiente se impide su asociación con la beta-2-microglobulina y su correcta presentación en la superficie celular (Waheed *et al*, 1997). El 80% de los pacientes son homocigotos para la mutación C282Y, variando este porcentaje según la población estudiada desde un 64% en pacientes italianos hasta un 100% en pacientes Australianos (Merryweather-Clarke *et al*, 2000).

Una segunda mutación con menor influencia clínica consiste en la transversión C-G en el nucleótido 187 que da lugar a la sustitución de una histidina por un ácido aspártico en la posición aminoacídica 63 (H63D). La proteína mutada se expresa en la superficie celular pero no interacciona correctamente con la proteína TfR. Se presenta con una frecuencia entre el 10-20% en la población europea y sólo predispone a un acúmulo patológico de hierro en combinación con otros factores genéticos (heterocigosis con la mutación C282Y) o ambientales (Adams *et al*, 2000).

La tercera mutación en importancia consiste en el cambio de una serina por una cisteína en la posición 65 de la proteína HFE (S65C). Se presenta con una frecuencia de 2-3% y es responsable de una forma leve de la enfermedad cuando se hereda en heterocigosis con la C282Y o con la H63D (Mura *et al*, 1999).

Las manifestaciones propias de la enfermedad suelen aparecer después de la quinta década de la vida. A edades más tempranas los síntomas son heterogéneos y difíciles de detectar y por lo tanto una detección temprana mediante un análisis genético antes del desarrollo de la enfermedad cobra una extraordinaria importancia puesto que de esta manera se pueden evitar las graves complicaciones hepáticas, cardíacas endocrinas, etc. derivadas de la deposición patológica de hierro. Recientemente se ha desarrollado un método usando amplificación alelo-específica que permite detectar simultáneamente las mutaciones responsables de la Hemocromatosis Hereditaria de una forma rápida y sencilla (Gómez-Llorente *et al*, 2004).

La Fibrosis Quística es una importante enfermedad de origen genético que se manifiesta aproximadamente en uno de cada 2000-3000 individuos nacidos vivos. Las manifestaciones clínicas son muy heterogéneas afectando a diversos órganos y aparatos en distinto grado de expresión. Fundamentalmente afecta al aparato respiratorio, digestivo, glándulas sudoríparas, y aparato reproductor.

En 1989, se detecta por primera vez la mutación más frecuente responsable de esta enfermedad (Keren *et al*, 1989). Dicha mutación consiste en una delección de tres bases, CTT, en el exón 10 del gen CFTR localizado en el cromosoma 7. La pérdida de estas bases no altera la pauta de lectura del ARNmensajero, produciéndose simplemente la pérdida de una fenilalanina en la posición 508 correspondiente al dominio NBF cercano al extremo amino de la proteína. Es por esto que a esta mutación se la denomina delta F508.

Los estudios llevados a cabo del gen CFTR en diferentes poblaciones han puesto de manifiesto la existencia de diferencias considerables en la frecuencia de presentación de las mutaciones más comunes. La mutación delta F508 representa un 90% de las detectadas en Dinamarca mientras que en Túnez representa sólo un 18% (Estivill *et al*, 1997).

En el área mediterránea las mutaciones del gen CFTR presentan una gran heterogeneidad molecular, correspondiendo a la población española la tasa más alta de toda la región mediterránea. En España se han identificado más de 70 mutaciones diferentes de las que sólo 10 de ellas se presentan con una frecuencia superior a un 1% (Casals *et al*, 1997). Esto significa que hay que llevar a cabo el análisis de un alto número de mutaciones si se quiere diagnosticar una alta proporción de los enfermos de Fibrosis Quística en España. Recientemente se ha estudiado la distribución de las mutaciones del gen CFTR en pacientes españoles diagnosticados de Fibrosis Quística utilizando un método que permite detectar simultáneamente 31 mutaciones diferentes. Aplicando este método se ha podido caracterizar sólo un 68% de los alelos mutados (Gomez-Llorente *et al*, 2001).

Con el propósito de caracterizar un porcentaje mayor, cercano al 90%, de los alelos mutados se ha desarrollado recientemente un nuevo método capaz de detectar de forma simultánea 13 nuevas mutaciones (Farez-Vidal *et al*, 2004).

El disponer en la actualidad de métodos con los que poder realizar un diagnóstico molecular fiable de enfermedades como las ya comentadas, ha permitido plantearse llevar a cabo programas de detección de las mutaciones responsables de estas enfermedades en recién nacidos presintomáticos.

Se ha discutido ampliamente la relación riesgo/beneficio que se deriva de este tipo de programas. Hoy día, son cada vez más el número de publicaciones donde se evalúan los resultados de la aplicación de métodos de diagnóstico molecular en recién nacidos presintomáticos tanto en Estados Unidos como en Europa (Scotet *et al*, 2001).

Con carácter general se puede afirmar que los pacientes con Fibrosis Quística, identificados precozmente en estos programas, se benefician con una mejoría sustancial de su estado nutricional y de su función pulmonar.

Puesto que las técnicas empleadas en la detección de las mutaciones, de estas enfermedades, son cada vez más sencillas, fáciles, fiables y económicas y, puesto que los riesgos de su aplicación en programas de detección precoz parecen ser sólo económicos (Farrel *et al*, 1997), resulta fácil estar de acuerdo con Dankert y Meerman que en una editorial publicada en 1997 en el *New England Journal of Medicine* concluían que había llegado la hora de aceptar la posibilidad de llevar a cabo programas destinados a realizar un diagnóstico molecular en recién nacidos presintomáticos de forma rutinaria.

Los programas de detección de portadores asintomáticos sólo son válidos en aquellos casos, como los de la Fibrosis Quística y la Hemocromatosis, en los que el conocimiento de que se puede producir una enfermedad antes de que aparezcan los primeros síntomas permita adoptar las medidas adecuadas que de forma fehaciente mejoren el pronóstico vital de los pacientes y, de esta manera poder prevenir o bien retrasar y/o aminorar el comienzo, la progresión o las complicaciones de dichas enfermedades.

Los resultados que se derivan de la aplicación de la medicina genómica en el caso de enfermedades como la corea de Huntington o la Distrofia Muscular de Duchenne son bien distintos a los comentados hasta ahora.

La corea de Huntington es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por trastornos del movimiento, trastornos psiquiátricos y demencia. El comienzo de la enfermedad es más frecuente en la cuarta o quinta década de la vida, aunque en un seis por ciento de los casos el comienzo de los síntomas se inicia antes de los veinte años y, es conocida como variante de Westphal. En cualquier caso, la enfermedad conduce a la muerte de los que la padecen sin que existan tratamientos efectivos que la eviten.

La enfermedad se hereda con carácter autosómico dominante con penetrancia completa. En 1993, se descubrió el gen y la mutación causante de esta enfermedad, que se produce exclusivamente por una expansión de la repetición del triplete CAG.

El diagnóstico de sospecha de la enfermedad es a veces difícil, derivado de una parte de la dificultad de obtener datos de la historia familiar debido a problemas de oscurantismo y por otra parte debido a que los métodos auxiliares de diagnóstico pueden o ser normales o bien mostrar alteraciones inespecíficas. El descubrimiento de que una sola mutación es la causa de todos los casos probados de corea de Huntington y el disponer de métodos moleculares capaces de detectar la mutación genética, ha puesto a disposición del clínico la prueba definitiva para su diagnóstico.

En el caso de individuos sanos, los estudios moleculares de portadores constituyen diagnósticos pre-sintomáticos de la enfermedad que solo deben realizarse a los individuos que lo solicitan después de ser previamente informados, puesto que el conocimiento previo de que pueden padecer la enfermedad puede comportarles serias alteraciones psicológicas. Es por esto que el asesoramiento debe hacerse tras un estudio psiquiátrico previo de su personalidad y de un seguimiento y apoyo posterior habida cuenta que se trata de una enfermedad de aparición en la edad adulta, de curso progresivo y para la que desafortunadamente no existe un tratamiento eficaz. Los resultados obtenidos en el Reino Unido tras una experiencia de diez años, han puesto de manifiesto que sólo un 20% de individuos con riesgo de parecer la enfermedad solicitan el diagnóstico pre-sintomático (Harper *et al*, 2000).

La distrofia muscular de Duchenne es una enfermedad hereditaria que se manifiesta en aproximadamente en 1 de cada 3500 individuos

nacidos vivos y, es causada por mutaciones en el gen de la distrofina que da como resultado la ausencia total o parcial de la proteína en las fibras musculares.

El gen de la distrofina se identificó en el cromosoma X en 1986, siendo poco después elucidada su estructura. Contiene 2.6 millones de pares de bases y es el gen más grande de todo el genoma humano que contiene la información para la síntesis de una enorme proteína, la distrofina, formada de 3685 aminoácidos que es imprescindible para la estabilidad mecánica de las células musculares durante la contracción muscular.

Las primeras manifestaciones de la enfermedad se producen entre los 3 a 5 años de edad con dificultades en la marcha y sobre todo al subir escaleras. Rápidamente progresa con deformidades de la columna vertebral y restricción de los movimientos que hacen necesario el uso de sillas de ruedas, conduciendo finalmente a la muerte a una edad adulta temprana por insuficiencia cardíaca y respiratoria. No existe en la actualidad terapia alguna que pueda curar esta enfermedad, solamente se han encontrado tres drogas relacionadas, prednisona, prednisolona y deflazacort que sólo durante un periodo de tiempo muy limitado pueden aminorar ligeramente la degeneración muscular.

La distrofia muscular de Duchenne es causada por tres clases diferentes de mutaciones en el gen de la distrofina: deleciones o duplicaciones de uno o más exones del gen y mutaciones puntuales. En un 25% de los casos las mutaciones del gen no se heredan de la madre sino que se producen de forma espontánea.

Contrariamente a lo que ocurre en la enfermedad de Huntington, que se produce por una única alteración del gen, la enfermedad de Duchenne presenta una enorme complejidad genética como consecuencia de la existencia de múltiples mutaciones diferentes en el gen. La tecnología disponible hoy día sólo permite llevar a cabo un diagnóstico molecular cuando la causa de la misma sea debida a deleciones o duplicaciones de los exones del gen, circunstancia que solo ocurre en el 70% de los casos. La detección de la alteración del gen es hoy día la prueba definitiva que confirma el diagnóstico, evitando-se así otras pruebas más traumáticas como la biopsia muscular.

Enfermedades como la corea de Huntington o la Distrofia Muscular de Duchenne, para las que no existe un tratamiento que pueda curarlas, son el ejemplo típico de aquellas enfermedades para las que no tiene validez la aplicación de métodos moleculares diagnósticos en individuos sanos pre-sintomáticos, puesto que el conocimiento previo no evita que se pueda padecer la enfermedad y, sólo cuando se realizan, lo son como en el caso antes comentado de la corea de Huntington por razones estrictamente personales y no por razones de orden médico.

En el caso de enfermedades autosómicas recesivas ligadas o no al cromosoma X, el diagnóstico de un miembro de la familia aconseja la detección de posibles portadores, con el objeto de informales sobre el riesgo de tener un hijo enfermo. Corresponde a los futuros padres la adopción de las medidas que lo eviten, bien usando métodos anticonceptivos o en el caso de mujeres embarazadas sometiéndose a un diagnóstico pre-implantación o prenatal que en caso de ser positivo les sirva de argumento para tomar la difícil decisión de someterse a una interrupción voluntaria del embarazo.

En el caso de enfermedades relacionadas con alteraciones producidas en más de un gen, tales como la diabetes, hipertensión, enfermedad cardiovascular, esquizofrenia o cáncer, la medicina genómica se encuentra en un terreno de mayor dificultad.

La contribución de cientos o miles de alteraciones diferentes en varios y diversos genes, las complejas interacciones entre los mismos y la contribución de factores medioambiental y epigenéticos al desarrollo de estas enfermedades, así como la heterogeneidad molecular que subyace en el desarrollo de muchas de ellas, ha complicado enormemente la posibilidad de desarrollar aproximaciones moleculares que contribuyan de forma eficaz a su diagnóstico, prevención y tratamiento.

Desde hace unos diez años se dispone de nuevas tecnologías, entre las que se encuentra el uso de micromatrices más conocida en su versión inglesa *microarrays*. Esta técnica permite medir la expresión de prácticamente la totalidad de los genes en una muestra biológica obtenida de individuos que padecen enfermedades tales como cáncer (Van de Vijver *et al*, 2002), procesos inflamatorios (Warner and Diec-

kgraefe, 2002), enfermedades infecciosas (Anthony *et al*, 2001), desórdenes psiquiátricos (Middleton *et al*, 2002) y otras, lo que ha conducido al descubrimiento de nuevos marcadores moleculares de utilidad en el diagnóstico, la predicción pronóstica y en la aplicación de nuevas estrategias terapéuticas, así como al establecimiento de una nueva taxonomía molecular de las enfermedades que empieza a reemplazar los actuales esquemas empíricos de clasificación.

La utilidad de esta tecnología, con la que se puede obtener miles de datos sobre el genoma humano, está prácticamente limitada todavía al campo de la investigación biomédica. Para que su uso en la rutina clínica sea posible hay que resolver aún un buen número de problemas. No obstante, los avances que se están produciendo en los últimos años respecto al conocimiento de las bases moleculares de las enfermedades poligénicas están abriendo puertas a la esperanzas, cada vez más fundadas, de que dichos conocimientos produzcan un impacto inmediato en la práctica clínica diaria.

En la última década, se están realizando esfuerzos investigadores encaminados a corregir las alteraciones de los genes responsables de las enfermedades con el objeto de encontrar una medida terapéutica eficaz. La manipulación del material genético con propósitos terapéuticos es lo que se denomina Terapia Génica.

Esta aproximación terapéutica se diseñó originalmente para tratar enfermedades monogénicas. El primer protocolo de terapia génica para humanos se diseñó en el año 1990 para corregir la enfermedad producida por una deficiencia de adenosina desaminasa. En 1996 se aprobaron en Estados Unidos 132 protocolos de los que 96 estaban dirigidos al tratamiento de ciertos tipos de cáncer. En Europa se aprobaron 40 de los que 32 se relacionan con el cáncer.

Enfermedades como la fibrosis quística, enfermedad de Gaucher, hemofilia, síndrome de Hunter, anemia de Fanconi, granulomatosis crónica, artritis reumatoide, cáncer de riñón, ovario, pulmón, hígado, mama, colón o melanoma son algunas de las enfermedades de los más de 1000 enfermos que están siendo sometidos a ensayos de terapia génica en Estados Unidos y en Europa.

Mediante la terapia génica se pretende controlar la enfermedad fundamentalmente de dos maneras: 1) Insertando una copia sana del

gen alterado. 2) Insertando un gen que produzca una proteína que confiera a la célula una nueva propiedad.

La introducción de genes sanos se hace usando vectores que los hagan llegar a los cromosomas hospedadores. Fundamentalmente se están utilizando cuatro tipos de vectores: retrovirus, adenovirus, liposomas y ADN desnudos. Cada vector presenta ventajas e inconvenientes y, naturalmente no se ha encontrado todavía la manera, la estrategia y el vector adecuado para que de forma definitiva se pueda reparar la alteración génica en las células. Existen todavía muchos problemas que deben resolverse y, posiblemente en el futuro no existirá una estrategia ideal aplicable a cada enfermedad, sino varias opciones posibles.

En este sentido la pregunta que hay que hacerse es si debemos ser optimistas respecto de la posible solución que la terapia génica represente en el futuro. Esta pregunta es difícil de contestar, aunque si miramos sólo 30 años hacia atrás y, comparamos lo que se conocía con lo que hoy se conoce respecto a los mecanismos moleculares que subyacen en estas enfermedades, no cuesta mucho creer y esperar que con los conocimientos actuales, la tecnología que se dispone y con el número de investigadores que se están dirigiendo hacia la solución de esta problema, la terapia génica sea una realidad en un futuro no muy lejano. A este respecto W. Frech Anderson, director de los laboratorios de terapia génica de la Universidad de California, ha manifestado recientemente: *Mi opinión es que dentro de veinte años la terapia génica será una rutina médica más.* Tengamos pues confianza en que esto sea verdad.

En el horizonte de un futuro mucho más próximo se sitúa una de las disciplinas derivada de la medicina genómica de enorme relevancia clínica como es la Farmacogenómica, que pretende estudiar la forma en que cada individuo, debido a su constitución genética, responda a distintos medicamentos.

Hoy se conocen la existencia de una variedad de poliformismos de un solo nucleótido (SNP) responsables de la diferente respuesta a ciertos medicamentos de los pacientes, entre los que cabe destacar los descubiertos en el gen CYP (Broly *et al*, 1991) que codifica el citocromo P450 que interviene en el metabolismo de muchas drogas tales como bloqueantes beta-adrenérgicos, anti-histamínicos, analgés-

sicos, antidepresivos y antipsicóticos, el gen MDR-1 (Borst *et al*, 2000) que codifica una proteína transportadora (p-glicoproteína) que juega un importante papel en la regulación de la absorción, distribución y excreción de muchos medicamentos, o en genes que codifican proteínas receptoras (Makoff, 2000) para opioides, estrógenos, dopamina o 5-hidroxi-triptamina. La existencia de estas variantes alélicas entre individuos es la responsable de la diferente respuesta a los fármacos de algunos pacientes para los que las dosis establecidas actualmente, o bien no le producen efectos o le producen efectos secundarios indeseables.

El conocimiento de la disposición genética individual de los pacientes será clave para diseñar drogas especializadas de mayor eficacia y seguridad y también para poder establecer la dosis adecuada para cada medicamento.

El disponer en la actualidad de técnicas cada vez más precisas y fiables de análisis de ADN, ha influido de forma determinante al desarrollo de otro campo tan importante de la medicina como es el de la Medicina Forense. Hoy es posible estudiar el ADN nuclear y mitocondrial de cualquier muestra biológica aunque se encuentre en cantidades de trazas o se hayan recuperado bastante tiempo después de acontecidos los hechos que se quieren investigar.

De estos avances se ha beneficiado la criminalística, en lo referente a la identificación de indicios biológicos criminales y, los procesos en los que se requieren llevar a cabo estudios de la paternidad y maternidad. Igualmente ha permitido crear bases de datos para la comparación de individuos y sospechosos en investigaciones criminales como son el sistema CODIS en los Estados Unidos o el Programa Fénix de identificación de personas desaparecidas en España.

El gran desarrollo que ha experimentado la Medicina Genómica ha planteado al ejercicio de la práctica médica nuevas cuestiones éticas y morales. Ninguna profesión ha sido consciente desde tan antiguo como la Medicina de las dimensiones morales implicadas en su ejercicio. En el Código del Rey Hammurabi, que reinó en Babilonia hacia 2250 a de C. se recoge la primera reglamentación legal del ejercicio médico. En la cultura occidental, apareció el primer testimonio de la conciencia de la Medicina sobre las implicaciones éticas de

la profesión en el famoso Juramento de Hipócrates, que es parte del llamado Corpus Hippocraticum o conjunto de escritos atribuidos al que es calificado, con razón, como el padre de la Medicina. Durante el siglo XIX se empiezan a constituir las primeras asociaciones o Colegios Médicos entre cuyas funciones se encuentran la de evaluar la ética de los profesionales colegiados. Hoy día y, derivado de los recientes avances de la Medicina Genómica y de su aplicación al ser humano, es normal el uso del término *bioética*, tanto por el hombre de la calle como por los medios de comunicación, en relación con la valoración ética del progreso de la Medicina.

El término bioética fue utilizado por primera vez por el médico estadounidense Van Rensselaer Potter en su libro *Bioética: Puente al Futuro*, publicado en 1971 (Potter, 1971) definiéndola como *una nueva disciplina que combina conocimiento biológico con un sistema de valores humanos*.

Los recientes avances en el campo de la Medicina Genómica, no sólo han contribuido a mejorar la salud, sino también han originado un complejo número de nuevas cuestiones morales, éticas, legales y sociales con implicaciones tanto individuales como familiares que afectan a la práctica de la medicina de hoy día, planteándose entre otras las cuestiones: ¿Cómo tiene que interpretarse y usarse la información genética?. ¿Quién puede tener acceso a dicha información?. ¿Cómo se pueden proteger las personas del daño que pueda resultar de un uso inadecuado de dicha información?.

Para dar respuesta a todas las cuestiones que plantea hoy día el ejercicio de la profesión médica, ha surgido una nueva normativa legal que contempla y regula toda la problemática derivada de la aplicación de la medicina genómica, con objeto de adecuar la práctica de la medicina a la demanda social y a los derechos fundamentales de las personas.

EPÍLOGO

El nacimiento de la Nueva Medicina no ha sido causal, sino que en parte se ha debido a importantes contribuciones de investigadores,

que viniendo de otros campos de la ciencia como la Física o la Química, introdujeron nuevas maneras de pensar y analizar los problemas planteados por la Medicina. Creo pertinente en este punto manifestar que la relación de estas ciencias con la medicina es recíproca, puesto que el motivo que alentó a los investigadores en estos campos de la ciencia fue sin duda en muchos casos el de tratar de resolver y explicar en términos moleculares las cuestiones más importantes que planteaba la Fisiología y la Patología Humana.

Desde que en 1865, Mendel abrió el camino que condujo al establecimiento de los fundamentos de la Genética, hasta el año 1953 en que se estableció definitivamente por Watson y Crick la naturaleza de la molécula responsable de la herencia, transcurrieron 89 años.

Sin embargo, sólo se han necesitado 50 años para poner en claro los mecanismos de la réplica, transcripción, traducción y regulación de la síntesis de proteínas, el desciframiento del código genético y el conocimiento de la secuencia del genoma humano. Todos estos acontecimientos han situado a la Medicina en un nivel jamás imaginado, sólo hace 20 años atrás, en relación con el diagnóstico, prevención y curación de las enfermedades. El conocimiento del genoma de microorganismos ha contribuido igualmente al diagnóstico, prevención y tratamiento de las enfermedades infecciosas.

El progreso no se ha detenido, nos encontramos en un periodo donde el conocimiento del genoma humano ha sido sólo el punto de partida que está conduciendo al estudio de las proteínas celulares que son codificadas por los genes. Hemos entrado ya en la era de la Proteómica.

La expansión que la Medicina ha experimentado en los últimos años y las previsiones para el futuro, plantean la necesidad de educar a los futuros médicos, no sólo para que adquieran los nuevos conocimientos científicos, sino también para que puedan adoptar las actitudes y normas de conducta que le permitan manejar adecuadamente las nuevas situaciones que están emergiendo en la práctica de la Medicina.

Los avances que se han producido recientemente en el campo de la Biología Molecular y, que he puesto de manifiesto en mi discurso, ha propiciado que hoy día todos los biólogos moleculares acepten definitivamente el hecho de que los procesos de los seres vivos siguen las leyes de la Física y de la Química.

Cuando se trata de dar una explicación a las funciones más complejas del hombre como la inteligencia, los sentimientos, la autoconciencia, la conceptualización, el pensamiento simbólico y abstracto o la actuación libre, aceptar que todo puede explicarse estrictamente mediante principios físicos y químicos es más complejo. ¿Debemos aceptar que la última meta del nuevo conocimiento en Biología es de hecho explicar toda la Biología en términos de Física y Química como sostuvo Francis Crick? ¿Debemos suprimir del lenguaje científico el alma como postula James Watson? ¿Podemos ser reducidos a Física y Química y ser determinados exclusivamente por nuestros genes?.

La controversia entre el neovitalismo y el mecanicismo, a mi entender, aún no se ha cerrado. Entre tanto, como científico, soy partidario de la doctrina mecanicista, no como una tesis o teoría específica acerca del carácter de los procesos biológicos, sino como una máxima heurística, como un principio guía de la investigación que ha animado a los científicos a persistir en la búsqueda de teorías físico-químicas de los fenómenos biológicos sin resignarse a pensar que los conceptos y principios de la Física y de la Química son incapaces de dar cuenta adecuadamente de los fenómenos de la vida. La aceptación de estos principios se ha mostrado de extrema utilidad para el avance de la ciencia biológica que no se hubiesen podido alcanzar desde una posición estrictamente vitalista. Sin embargo, las teorías físicas y químicas y las leyes conectivas que disponemos en la actualidad no son suficientes, a mi entender, para reducir los términos de la Biología Humana a los de la Física y la Química. En otras palabras ¿Es el hombre sólo Física y Química?

Habiendo dejado claro, a este respecto, mi posición como científico, no quisiera terminar mi discurso sin introducir un elemento para la reflexión desde mi otro Yo, desde mi realidad integral como persona, con mis ideas y mis creencias.

En la introducción del capítulo titulado Las Fronteras del libro *El Azar y la Necesidad*, Jacques Monod plantea: *Cuando se piensa en el inmenso camino recorrido por la evolución a lo largo de 3000 millones de años, en la prodigiosa riqueza de las estructuras que ha creado, en la milagrosa eficacia de las performances de los seres vivos, de la*

bacteria al hombre, se puede empezar a dudar que todo ello sea producto de una enorme lotería, sacando números al azar, entre los cuales una selección ciega ha designado los escasos ganadores.

Quiero hacer pública mi postura a este respecto confesando mi creencia en la existencia de un Ser superior creador de la vida y por lo tanto hago mía la reflexión con la que Laín Entralgo termina su libro *Cuerpo y Alma: Mis creencias pueden soportar mis dudas. Y si mi muerte, como honradamente deseo, me permite hacer de ella un acto personal, si no es la súbita consecuencia de un accidente fortuito, al sentirla llegar diré en mi intimidad. Señor, esta es mi vida. Mírala según tu Misericordia.*

He dicho.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams P, Brissot P and Powell L. W. EASL. International Consensus Conference on Haemochromatosis. J. Hepatol. 33:485-504.2000
- Anthony R. M. *et al.* DNA array technology and diagnostic microbiology. Expert Rev Mol Diagn. 1: 30-38. 2001.
- Baird D. A *et al.* Genetics disorders in children and young adults. A population study. Am J Hum Genet. 42: 677-679. 1998.
- Beadle G. W and Tatum E. L. Genetic control of biochemical reactions in neurospora. Proc Natl Acad Sci USA. 27: 499-506. 1941
- Berg P *et al.* Potential biohazards of recombinant DNA molecules. Proc Natl Acad Sci. USA. 71: 2593-2594. 1974.
- Berg P *et al.* Potential biohazards of recombinant DNA molecules. Science. 185: 303. 1974 b.
- Borst P *et al.* A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. J Nat Cancer Inst. 92: 1295-302. 2000.
- Brannigan A. The Reification of Mendel. Soc Stuct Sci. 9: 423-454. 1979
- Brenner S *et al.* UGA: a third nonsense triplet in the Genetic Code. Nature. 213: 449-450. 1967.
- Broyl F *et al.* Debrisoquine sparteine hydroxylation genotype and phenotype. Analysis of common mutations and alleles of CYP2D6 in a European population. DNA and Cell biology. 10: 545-558. 1991.
- Casals T *et al.* Heterogeneity for cystic fibrosis in Spanish families: 75 mutations account for 90% chromosomes. Hum Genet. 101: 365-370. 1997.
- Clark B. F. C and Marcker K. A. The role of N-terminal-methionyl-sRNA in protein biosynthesis. J Mol Biol. 17: 394; 406. 1966.
- Dankert-Roelsen J. E and Meerman G.J. Screening for cystic fibrosis. Time to change our position? N Engl J Med. 337: 997-998. 1997.
- De Lisi C. The Human Genome Project. Am Sci. 76: 488. 1988.
- Doty P, Marmur J, Ergner J and Schildkraut C. Strand separation and specific recombination in Deoxyribonucleic Acids: Physical chemical studies. Proc Natl Acad Sci USA. 46: 461-476. 1960.
- Dulbecco R. A turning point in cancer research: sequencing the human genome. Science. 231: 1055. 1986.
- Efstratiadis A *et al.* Enzymatic in vitro synthesis of globin genes. Cell. 7: 279-258. 1976.
- Erlich H. A, Gelfand D and Sniasky J. J. Recent advances in the polymerase chain reaction. Science. 252: 1643-1651. 1991.
- Estivill X *et al.* Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. Hum Mutat. 16: 135-139. 1997.
- Farrel P.M *et al.* Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. N Engl J Med. 337: 963-966. 1997.
- Farez-Vidal E. *et al.* Multimutational analysis of eleven cystic fibrosis mutations common in the Mediterranean population. Clinical Chemistry. 2004.
- Feder J. N *et al.* A novel MHC-Class-I- Like gene mutated in patients with hereditary haemochromatosis. Nat Genet. 13: 399-408. 1996.
- Frankling R. E. and Gosling R. G. Molecular configuration in Sodium Thymonucleate. Nature. 171: 740-741. 1953.
- García Barrero P. La Patofisiología a través de la Historia de la Bioquímica en: Historia de la Bioquímica. Real Academia de las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Madrid. 1985.
- Gomez-Llorente C *et al.* Multiplex analysis of the most common mutations related to hereditary haemochromatosis : two methods that combining specific amplification with capillary electrophoresis. Eur J Haematol. 72: 121-129. 2004.
- Gomez-Llorente M. A *et al.* Analysis of 31 mutations in 55 families from the south of Spain. Early Hum Develop. 65: 161-164. 2001.
- Grunberg-Manago M, Ochoa S. Enzymatic synthesis and breakdown of polynucleotides: Polynucleotide phosphorylase. JACS. 77: 3165-3166. 1955.

- Harper P. S, Lim C and Craufurd D. Ten years of presymptomatic testing for Huntington's diseases: the experience of the UK Huntington's Disease Prediction Consortium. J Med Genet. 37: 567-571. 2000.
- Hinshelwood C. The chemical kinetics of the bacterial cell. The Elmsdon Press. Oxford. 1946.
- Hoagland M. B. Nucleic Acids and Proteins. Scientific American. 201: 55-61. 1959.
- Hoagland M, Keller E. B and Zamecnik P. C. Enzymatic carboxyl activation of amino acids. J. Biol Chem. 218: 345-358. 1956.
- Ingram V. M. A specific chemical difference between the globin of normal human and sickle cell anemia haemoglobin. Nature. 178: 792-794. 1956.
- Ingram V. M. Gene mutations in human haemoglobin: The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. Nature. 180: 326-328. 1957.
- International Human Genome Sequencing Consortium (IHGSC). Initial sequencing of the human genome. Nature. 409: 860-921. 2001.
- Jackson D. A, Symons R. M and Berg P. Biochemical methods for inserting new genetic information into DNA of Simian Virus 40: circular SV40 molecular containing lambda phage genes and the Galactose operon of E. Coli. Proc Natl Acad Sci. USA. 69. 2904-2909. 1972.
- Jacob F. La logique du vivant. Gallimard. Paris. p 282 (Translated as The logic of life. Pantheon Press. New York. 1974).
- Kay L. Who wrote the book of life? A history of the genetic code. Stanford: Stanford University Press. 2000.
- Keren D. S *et al.* Identification of the Cystic Fibrosis gene. Genetic analysis. Science. 245: 1073-1076. 1989.
- Koler R. E. From Medical Chemistry to Biotechnology. Cambridge University Press. Cambridge. 1982.
- Khorana H. G. Polynucleotide synthesis and the Genetic Code. Harvey Lectures 1966-1967, series 62, Academic Press. New York. 79-105. 1968.
- Klug A. Rosalind Frankling and the discovery of the Structure of DNA. Nature. 219: 808-810, 843-844. 1968.
- Lacadena J.R. La historia de la genética a través de la Bioquímica en: Historia de la Bioquímica. Real Academia de las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Madrid. 1985.
- Lamberg M. R and Zamecnik P. C. Amino Acid Incorporation into proteins by extracts of E. Coli. Biochim Biophys Acta. 42: 206-211. 1960.
- Laín Entralgo P. Historia de la Medicina. Barcelona. Salvat. 1988.
- López Piñero J. M. Medicina, Historia, Sociedad. Barcelona: Ariel. 1969.
- Makof A. J *et al.* Association study of dopamine receptor gene polymorphisms with drug-induced hallucinations in patients with idiopathic Parkinson's disease. Pharmacogenetics. 10: 43-48. 2000.
- Manchester K. L. Exploring the gene with X-Rays. TIG. 12: 515-518. 1996.
- Marshall R. E *et al.* RNA codewords and protein synthesis. XII Fine structure of RNA codewords recognized by bacterial, amphibian and mammalian transfer RNA. Science. 155: 820-826. 1967.
- Maxam A. M. and Gilbert W. A new method for sequencing DNA. Proc Natl Acad Sci. USA. 74: 560-564. 1977.
- Merryweather-Clarke A. T *et al.* Geography of HFE C282Y and H63D mutations. Genet Test. 4: 183-198. 2000.
- Meselson M and Stahl F. W. The replication of DNA in Escherichia Coli. Proc Natl Acad Sci USA. 44: 671-682. 1958.
- Middleton F. A *et al.* Gene-expression profiling reveals alterations of specific metabolic pathway in schizophrenia. J Neuosci. 22: 2718-2719. 2002.
- Morange M. A history of Molecular Biology. Harvard University Press. Cambridge. 2000.
- Morgan T. M., Sturtevant A. H, Muller H. J and Bridges C. B. The mechanisms of mendelian heredity. Henry Holt and Co. New York. 1915.
- Muller H. J. Artificial trasmutation of the genes. Science. 66: 84-87. 1927.
- Municio A. M. Antes y después de la Bioquímica en: Historia de la Bioquímica. Real Academia de las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Madrid. 1985.
- Mura C, Ragueneo O and Ferec C. HFE mutation analysis in 711 haemochromatosis probands: evidence for S65C implication in the mild form of haemochromatosis. Blood. 93: 2502-2505. 1999.
- National Research Council: Mapping and sequencing the Human Genome. Washington, D. C National Academy. 1988.
- Neel J. V. The inheritance of sickle cell anemia. Science. 110: 64-66. 1949.
- Nirenberg M. Historical review: Deciphering the genetic code a personal account. Trends in Biochemical Sciences. 29: 46-54. 2004.
- Nirenberg M. W and Mattai J. H. The dependence of cell-free protein synthesis in E. Coli upon Naturally Occurring or Synthetic polyribonucleotides. Proc Natl Acad Sci. USA. 47. 1588-1602. 1961.
- Nomura M, Hall B. D and Spiegelman S. Characterization of RNA, synthesized in Escherichia Coli after bacteriophage T2 infection. J. Mol. Biol. 2: 306-326. 1960.

Office of Thechnology Assessment: Mapping our genes. Genome Projects: How Big? How Fast? Washington, D. C. 1988.

Pauling L and Corey R. B. A proposed structure for the Nucleic Acids. Proc Natl Acad Sci USA. 39: 84-97. 1953.

Pauling L, Itano H. A, Singer S. J and Wells J. C. Sickle Cell Anemia, a molecular disease. Science. 110: 543-548. 1949.

Pennsini E. A hothouse of molecular biology. Science. 300: 2778-282. 2003.

Potter V. R. Bioethics: Bridge to the future. Englewood Cliffs, N.Y. 1971.

Randall K *et al.* Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science. 239: 487-491. 1958.

Sanger F, Nicklen S and Coulson R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci. USA. 74: 5463-5467. 1977.

Schrödinger E. What is life. Cambridge University Press. Cambridge. England. 1944.

Scotet V *et al.* Prevalence of CFTR mutations in hypertrypsinaemia detected though neonatal screening for cystic fibrosis. Clin Genet. 59: 42-45. 2001.

Singer M and Soll D. Guidelines for DNA hybrid molecules. Science. 181: 114. 1973.

Sorensen T *et al.* Genetics and environmental influences on premature death in adults adoptees. N Engl J Med. 318: 727-730. 1988.

Timofeeff-Ressovsky N. W, Zimmer K. G and Delbrück M. Uber die natur der genmutation und der genstruktur. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen Math-Phys. Kl. 6. 190-245. 1935.

Tissieres A, Sclessinger and Gros F. Amino Acid incorporation into proteins by Escherichia Coli ribosomes. Proc. Natl. Acad Sci. USA. 46: 1450-1463. 1960.

Van de Vijver M. J *et al.* A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. N Engl J Med. 347: 1999-2009. 2002.

Venter J. C, Adams M. D and Myers E. W. The sequence of the human genome. Science. 291: 1504-51. 2001.

Waheed A *et al.* Hereditary Haemochromatosis: effects of the C282Y and H63D mutations on association with beta2-microglobulin, intracellular processing and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cell. Proc Natl Acad Sci. USA. 94: 12384-12389. 1997.

Warner E. E and Dieckgraefe B. K. Application of genome-wide gene expression profiling by high-density DNA arrays to the treatment and study of inflammatory bowel diseases. Inflam Bowel Dis. 8: 140-157. 2002.

Watson J. D and Crick F. . A structure for desoxiribose nucleic acid. Nature. 171: 737-738. 1953.

Watson J. D and Crik F. Genetical implications of the structure of Desoxyribonucleic Acid. Nature. 171: 464-467. 1953 b.

Weigevt M. G and Garen A. Base composition of nonsense codones in E. Coli evidence from aminoacid substitutions at a tryptophan site in alkaline phosphatase. Nature. 206: 992-994. 1965.

Wensink P *et al.* A systems for mapping DNA sequences in the chromosomes of Drosophila Melanogaster. Cell. 3. 315-325. 1974.

Wilkins M. H-F, Stokes A. R and Wilson H. R. Molecular structure of desoxy pentose nucleic acid. Nature. 171: 738-740. 1953.

Zamecnik P. The machinery of protein synthesis. TIBS. 9: 464-466. 1984.

DISCURSO DE CONTESTACIÓN

del

EXCMO. SR. D. VICENTE PEDRAZA MURIEL

Excmo. Sr. Prof. D. Vicente Pedraza Muriel

*Experiencia es el nombre
que damos a nuestros errores*

Oscar Wilde

INTRODUCCIÓN

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina del Distrito de Granada,

Ilmo. Sr. Decano de la Facultad de Medicina,

Excmas e Ilmas Autoridades,

Excmos e Ilmos Sres Académicos,

Señoras y Señores, queridos amigos:

Constituye para mí un privilegio y un gran honor responder al discurso de ingreso en esta Real Corporación del profesor D. José Antonio Gómez Capilla. La Academia me honra con ello. Quiero decir que acepté en su día la propuesta que me hizo su Presidente por varias razones. Primero, por disciplina; segundo, por la personalidad y méritos del académico electo; tercero, porque suponía que contestar a su discurso iba a plantearme un reto con el que no tenía inconveniente en enfrentarme y, en último lugar, porque mi amistad

con el recipiendario me impedía decir que no a la participación en un acto tan importante para él y para su familia.

CURRICULUM PROFESIONAL Y PERSONAL

José Antonio Gómez Capilla, brillante alumno de los Escolapios durante el bachillerato, se licenció en Ciencias Químicas en la Universidad de Granada en 1967 y obtuvo el grado de Doctor en Ciencias por esta misma Universidad, en 1974, con una tesis doctoral sobre «Glucógeno y lípidos hepáticos» realizada bajo la dirección de los profesores Osorio Peláez y Macarulla Greoles, dos figuras fuertemente enraizadas en su formación a quienes, especialmente al primero, profesa una profunda estima y respeto. La citada tesis la hizo en calidad de becario del Plan de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Educación y Ciencia (1971-74). Con posterioridad fue becario postdoctoral de ampliación de estudios en el extranjero (1974-75).

Su formación académica se inició, previo un breve paréntesis en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias, en el Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Facultad de Medicina, junto al profesor Osorio, en 1969. Desde entonces, ha venido ocupando sucesivamente en este Departamento puestos de creciente responsabilidad (profesor ayudante de clases prácticas, adjunto contratado, encargado de curso y adjunto, agregado y catedrático interino, respectivamente). En 1978, obtuvo por concurso-oposición nacional la condición de profesor adjunto numerario y diez años después, en 1988, la de catedrático de Universidad en el área de Bioquímica y Biología Molecular. En 1975 realizó, como research Fellow, una estancia de larga duración en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Edimburgo (Reino Unido) trabajando con el profesor Derek R. Langslow sobre determinados aspectos del «metabolismo y regulación insulínica de la glucosa» en células animales aisladas de tejido adiposo. Posteriormente, en 1976, realizó una segunda estancia en el Departamento de Biología de la Universidad de Houston (Texas, Estados Unidos) con el profesor Robert L. Hazelwood, que se materializó en virtud de una propuesta de colaboración científica

internacional en el ámbito de la bioquímica recibida por el profesor Gómez Capilla de dicha Universidad y auspiciada por el gobierno norteamericano.

En el orden científico, las aportaciones del profesor Gómez Capilla son relevantes. Ha dirigido, hasta el momento, diecisiete tesis doctorales, ha publicado un importante número de trabajos sobre bioquímica y biología molecular en revistas de impacto y participado como ponente o comunicante en muchas reuniones científicas nacionales e internacionales de su disciplina. Ha sido investigador principal y asociado en, hasta ahora, cinco proyectos de investigación y, en la actualidad, cuando aun le queda un año de trabajo para finalizar el proyecto sobre «expresión génica de tumores humanos» que tiene entre manos, está colaborando conmigo en la preparación de un nuevo y ambicioso proyecto sobre «bases moleculares de la carcinogénesis física» que esperamos tener redactado pronto.

En el orden asistencial, el profesor Gómez Capilla es jefe de sección, por concurso-oposición también, del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Clínico Universitario de Granada desde 1977. Bajo su impulso se había creado, previamente, la unidad de cromatografía de dicho servicio, cuyo trabajo en la metodología y puesta a punto de técnicas para la determinación de esteroides urinarios ha sido muy apreciado. Desde 1997 en adelante, dirige la división de diagnóstico molecular de enfermedades genéticas del hospital, unidad de referencia hoy en Andalucía. La fibrosis quística, la distrofia muscular de Duchenne, la hemocromatosis y el déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa constituyen enfermedades cuyo origen molecular está siendo investigado por él y su grupo de colaboradores. Su experiencia, conocimiento y preparación científica en el ámbito de la Bioquímica y Biología Molecular son considerables. Se le considera, de hecho, introductor de la «orientación médica» que desde hace años preside la enseñanza de esta disciplina en la Facultad de Medicina de Granada, una preocupación que le indujo a realizar, siendo ya catedrático de Universidad, la Licenciatura de Medicina, que finalizó en la Universidad de Sevilla en 1998.

Un curriculum denso y consistente avala la presencia en la Academia de tan distinguido profesor. Yo no le conocía al llegar a esta

Universidad, como profesor de Radiología y Medicina Física en 1978. Durante los primeros años de convivencia me sorprendieron la tenacidad y el empuje con los que defendía la proyección de la Bioquímica en la enseñanza de la Medicina. Posteriormente, conocí de él otras facetas: su dilección para con los estudiantes, la solidez de sus convicciones científicas y doctrinales y la aproximación inteligente al análisis de los problemas. Hubo una época en la que colaboramos estrechamente en cuestiones de orden académico general, hasta que nos dimos cuenta que el control político y sindical de la vida universitaria hacía inútiles cualesquiera soluciones no basadas en los intereses de uno y otro tipo de poder. Esta noción reorientó nuestros esfuerzos hacia lo académico y lo científico y en ello estamos ahora.

La elección del Profesor Gómez Capilla como académico la considero sumamente acertada y me alegra mucho en este momento haber apoyado desde el principio la decisión de nuestro Presidente de dotar una plaza con la denominación de Bioquímica y Biología Molecular para la Academia. Estoy seguro de que sus cualidades personales y altura científica rendirán excelentes servicios a la misma. No quisiera dejar de mencionar, por último, algunos de los rasgos más característicos que definen, a mi juicio, al nuevo académico: granadino de pura cepa, devoto de la Virgen de las Angustias, cofrade de los que no fallan del Cristo de la Misericordia, el profesor Gómez Capilla encarna en su persona algunos de los valores que yo personalmente más estimo: la sencillez, la bondad y la lealtad. Sabe perder, en el deporte, frente a adversarios inferiores y busca la perfección en su ejercicio. Por estas y otras muchas razones es un ejemplo a seguir.

CONTENIDO DEL DISCURSO DE INGRESO

Plantea el nuevo académico en su discurso (extenso, enjundioso, actual y muy bien construido) un buen número de problemas de los que, en un primer análisis, podrían destacarse tres: 1) la relación entre la ciencia y la medicina; 2) los hechos, extraordinarios, acontecidos con ocasión del descubrimiento de la estructura del material genético y de sus precedentes más significativos; 3) la explosión tecnológica

sobrevvenida posteriormente en el ámbito molecular, un auténtico hito en el desarrollo científico y médico general. A estas tres cuestiones quisiera referirme brevemente con el beneplácito de todos ustedes.

ORÍGENES DEL RAZONAMIENTO MÉDICO

El nacimiento, a finales del siglo XVIII, de la medicina moderna no fue un acontecimiento fortuito sino el resultado de un fenómeno más amplio, la aparición del espíritu científico, fruto a su vez de la revolución intelectual y cultural del Renacimiento. En el Renacimiento, punto de inflexión de extraordinaria importancia en el curso de la historia, el hombre se aparta de lo divino, redescubre la Antigüedad greco-latina, renueva el arte, viaja para explorar los límites del universo, intenta (mediante el recurso a la técnica) imponerse al mundo que le rodea y se da cuenta de que, para descubrir los secretos de la naturaleza, hace falta comprenderla, medir el espacio, pesar la materia, analizar la caída de los cuerpos y descifrar las leyes que, bajo un desorden aparente, rigen la realidad de los fenómenos. Es el momento en el que todo bascula, se renuncia al conformismo, se desiste de la certeza y se acepta la incertidumbre de un mundo cambiante basado, no en la verdad revelada, sino en el poder de la mente y la fuerza de los hechos de observación.

La medicina moderna, resultado de una reflexión que va de lo singular a lo general, del análisis de uno o un grupo de enfermos a los conceptos de enfermedad y desorden fisiopatológico, ha sido inspirada en su desarrollo por el razonamiento científico. Hablar, por ello, de Copérnico, Galileo, Descartes, Newton, Einstein y muchos otros puede parecer superficial pero la ciencia ha sido el «primum movens» de la medicina y los obstáculos al progreso que debieron vencer los científicos desde el siglo XVI en adelante (escepticismo, incompreensión, inercia de los conocimientos y creencias previas) son los mismos a los que posteriormente hubieron de enfrentarse los médicos innovadores. Esta es la razón por la cuál el conocimiento de los hechos que caracterizaron los comienzos de la astronomía y de la física permite comprender lo sucedido posteriormente con la medicina.

EL MÉTODO CIENTÍFICO

El nacimiento de la ciencia se vincula por la mayoría de los historiadores a la publicación, por Copérnico, en 1543, de su libro «De revolutionibus orbium coelestium». Tras veinte años de investigación sobre el movimiento de los planetas, Copérnico, con la ayuda de una corta serie de instrumentos científicos y utilizando esencialmente la observación y el razonamiento, concluyó, contrariamente a todo lo admitido hasta entonces, que la Tierra gira alrededor del Sol y no el Sol, las estrellas y los planetas los que giran alrededor de la Tierra. Copérnico no pretendió con su obra redefinir el universo. Simplemente, rechazó el complejo aparato matemático y las sofisticadas hipótesis que se habían venido utilizando desde mucho tiempo antes para explicar su estructura.

Copérnico no ignoraba que si se venía abajo la concepción de la Tierra como elemento esencial en torno al cuál se organiza el universo conocido, no sólo la física, sino también la religión sufrirían fuertes sacudidas. A pesar de ello, no se amilanó. Sus planteamientos fueron los de un científico moderno: demostró la insuficiencia de las teorías anteriores, analizó críticamente diferentes tesis, formuló nuevas hipótesis y sometió éstas a verificación mediante la confrontación de los resultados de sus cálculos con los hechos de observación. El sistema científico de Copérnico no tiene el rigor de los que construyeron posteriormente Kepler, Newton o Einstein pero todos ellos derivan directamente de él y de sus tres postulados fundamentales: rigor, coherencia y simplicidad.

En la génesis de la revolución copernicana, jugaron un papel esencial el pensamiento neoplatónico (la investigación de los fenómenos reales a partir de abstracciones matemáticas) y dos hechos singulares: el descubrimiento de América y algunos avances técnicos relacionados con el mismo (la brújula, el timón y la medida de las latitudes geográficas) y la Reforma. El primero hizo nacer, frente al inmovilismo del medievo, la noción de progreso y la esperanza en el trabajo del hombre. La Reforma supuso un seísmo intelectual y político de grandes consecuencias. Sus partidarios proclamaron el derecho individual a interpretar, por su cuenta, los libros sagrados y la decisión de

establecer una disciplina intelectual libremente consentida desbordó los límites de lo religioso. Se negó, así, virtualidad y valor a las enseñanzas basadas en el principio de jerarquía y se puso de manifiesto, desde entonces, la dificultad de conciliar lo humano y lo divino, la fe y el conocimiento, lo subjetivo y lo racional, lo individual y lo colectivo, la libertad y la responsabilidad.

En la historia de la ciencia, las figuras de Copérnico y Darwin son, en alguna medida, paralelas. Darwin ejerció una influencia crucial en la evolución de las ideas al oponerse al concepto de antropocentrismo, es decir, al sugerir la modificación del lugar del hombre en el conjunto de los seres vivos. Copérnico transformó, igualmente, la concepción del hombre en el universo y su relación con él al proponer que la Tierra, asiento de la vida conocida, no es el centro del mundo sino uno más de sus planetas móviles. Con Copérnico surgió el pensamiento occidental, uno de cuyos hijos sería la medicina.

NACIMIENTO DE LA MEDICINA MODERNA

Sobre este fondo de relativismo, es necesario examinar el nacimiento, con un gran retraso sobre la física y la biología, de la medicina científica (el primer descubrimiento de ésta, la circulación de la sangre, señalado por el nuevo académico en su discurso, tuvo lugar, en efecto, en 1626). Aplicar a la medicina el método que tan excelentes resultados había proporcionado a la astronomía no fue, sin embargo, un camino desprovisto de dificultades. Encontrar una metodología que permitiese formular, a partir de una serie de casos particulares, reglas de carácter general precisó de mucho tiempo (varios siglos) y de la ayuda del método científico.

Uno de los principales problemas que hubo que resolver fue la negativa de los médicos de la época (siglos XVI y XVII) a incluir las ciencias de la vida en el marco general de las ciencias naturales. Renunciar a la especificidad de los seres humanos, admitir que la vida está regida por las leyes físico-químicas descubiertas en el estudio de la materia inanimada no fue fácil. Bichat escribía al respecto, en 1880, que «la inestabilidad y la irregularidad son características

básicas de los fenómenos vitales a los que no puede aplicarse el cuadro rígido de las relaciones físicas». A comienzos del siglo XIX, la visión antropomórfica (el hombre, centro del universo, movido por fuerzas cuyo objetivo esencial era la recompensa o el castigo) estaba profundamente anclada en la mentalidad humana y costó mucho admitir que el nacimiento y la muerte, la enfermedad y la salud son fenómenos naturales.

Un paso importante en el desarrollo científico de la medicina fue la distinción entre lo cualitativo y lo cuantitativo, entre la observación y la recogida de datos y la necesidad de completar las impresiones subjetivas derivadas del análisis de los pacientes (malestar general, palidez, astenia, respiración acelerada) con elementos objetivos (pérdida de peso, frecuencia del pulso, hematocrito, presión arterial, efecto de masa). Ahora bien, para saber qué había que cuantificar, para distinguir lo esencial de lo accesorio, se impuso como segunda etapa del pensamiento médico la conceptualización, es decir, la necesidad de realizar un esfuerzo de reflexión sobre el significado de los hechos de observación. La física nació cuando Galileo, estudiando el movimiento de los cuerpos, no se contentó con registrar su posición sino que introdujo los conceptos de velocidad instantánea y aceleración. En medicina, conceptualizar es buscar la enfermedad detrás de los síntomas diversos y ocasionalmente contradictorios que refieren los enfermos y encontrar el trastorno específico responsable de un determinado cuadro clínico.

Para alcanzar este objetivo, para identificar y clasificar las enfermedades (lo que llamamos hoy nosología), nuestros antecesores tuvieron que idear criterios de agrupación de fenómenos comparables y utilizar inteligentemente las similitudes observadas en diferentes casos. Hubieron de recurrir, en una palabra, al pensamiento racional. El arte está en la naturaleza, sólo hace falta extraerlo de ésta, decía Durero. De igual manera, la enfermedad radica en el cuerpo del enfermo y para su identificación se requiere un esfuerzo de abstracción, sistematización y rigor que la medicina ha encontrado buceando en el mundo de la física, primero, y en el de la ciencia, en general, después.

Particular importancia en el progreso de la medicina tuvo lo que en la teoría del conocimiento se conoce como reduccionismo. Limi-

tarse al estudio de los planetas en lugar de considerar el conjunto de los astros fue lo que hizo posible del desarrollo de la astronomía. Del mismo modo, la medicina avanzó espectacularmente cuando los médicos comprendieron, a partir del siglo XVIII en adelante, que mejor que analizar las enfermedades en su conjunto era preferible concentrarse en un pequeño grupo de ellas, cuando renunciaron a construir una teoría general explicativa de todos los estados de enfermedad y concentraron su interés en distinguir las enfermedades unas de otras y estudiarlas individualmente. Reduccionismo (humildad), observación, razonamiento, conceptualización, rigor, he aquí algunos de los principios que la medicina debe a la ciencia.

CLAUDE BERNARD Y LA MEDICINA EXPERIMENTAL

Aunque la figura más importante de la medicina experimental es, sin duda, Claude Bernard, el iniciador de la misma fue su maestro, Francois Magendie. Fisiólogo, farmacólogo, médico de hospital y discípulo de Rousseau, Magendie, deslumbrado por el dinamismo creador de la física, quiso ser el Newton de la medicina. En 1821, fue elegido miembro de la Academia Nacional de Ciencias de París y, desde muy joven, se enfrentó a todos los que se oponían a la aplicación médica de las leyes físicas generales. Magendie creó la farmacología experimental, introdujo la utilización sistemática de los animales de laboratorio en la investigación médica y trató de conseguir que la medicina fuese una ciencia experimental basada en datos, no en doctrinas vitalistas ni en cuestiones empíricas.

Las ideas de Magendie penetraron definitivamente en la medicina con la obra de su discípulo Claude Bernard. Fue éste quién introdujo en el pensamiento médico los conceptos de «medio interno», «regulación» y «función» y describió el papel específico desempeñado por los diferentes tejidos y estructuras corporales en el conjunto del organismo. Claude Bernard decía que «si se conoce bien un fenómeno fisiológico es posible identificar los trastornos patológicos relacionados con él». Las manifestaciones físico-químicas no cambian de naturaleza según el estado de salud y enfermedad. Fisiología y fisiopato-

logía se confunden y son, en el fondo, una misma cosa. «La enfermedad puede ser, simplemente, la consecuencia de un trastorno de regulación, la expresión exagerada o disminuída de una función normal», afirmación que en boca de Claude Bernard venía a romper el antagonismo entre salud y enfermedad y a establecer una continuidad de fenómenos de gradación insensible y armonía insospechada.

La aproximación innovadora y fecunda de Claude Bernard a la medicina fue rechazada por algunos clínicos de entonces que veían mal la invasión de su territorio por los fisiólogos. Uno de ellos, Jaccoud, llegó a afirmar que «la fisiología es una ciencia de lujo, sin ninguna utilidad para la medicina, de la se que puede prescindir». No obstante, a pesar de la oposición encontrada, la reflexión de Claude Bernard sobre la medicina experimental predominó en el pensamiento médico durante casi un siglo (hasta 1950) y su libro «L'introduction à l'étude de la médecine expérimentale» se convirtió en la obra de referencia de todos los médicos interesados por el desarrollo de nuestra disciplina.

La tríada conceptual definida por Claude Bernard (observación, hipótesis, experimentación) confirió a la medicina una dimensión comparable a la de las ciencias físicas e hizo posible la superación del método anatomoclínico que había sido desde comienzos del siglo XIX la única aproximación importante al desarrollo de la misma. Con Claude Bernard se pasó de la patología de la forma a la patología de la función y se fue perfilando, así, el desarrollo de la medicina actual. La endocrinología experimental es un ejemplo característico del cambio descrito. En 1895, Schiff demostró por primera vez que la extirpación del tiroides en animales de experimentación inducía una detención del crecimiento del animal. Años después, un grupo de cirujanos suizo percibió que la ablación tiroidea por bocio generaba la aparición del síndrome cretinoide, atribuyéndose la causa del mismo a una insuficiencia glandular. La mejoría espectacular obtenida tras la ingestión de extractos de tejido tiroideo fresco confirmó la veracidad de dicha hipótesis. Medio siglo más tarde se aislaron los principios activos (T3/T4) y el tratamiento de la insuficiencia tiroidea alcanzó niveles completamente racionales. Posteriormente, cuando se descubrieron los anticuerpos antitiroideos, quedó establecida la etiología de numerosas formas de hipotiroidismo. Casi cien años fueron necesarios para pasar de los

primeros estudios experimentales al conocimiento preciso de la enfermedad. En la patología funcional existe una relación recíproca entre experimentación y clínica. La biología y la medicina no se oponen. Antes al contrario, se complementan.

EXPANSIÓN Y PROGRESO DE LA MEDICINA

Para comprender la revolución que sobrevino en la medicina a partir de 1945 es necesario conocer la situación en la que se encontraba aquella en la primera mitad del siglo XX. Este periodo de tiempo corresponde al esplendor de la medicina anatomoclínica, que había permitido identificar las enfermedades por la asociación de signos clínicos y lesiones anatómicas. El método anatomoclínico se agotó pronto, sin embargo, pues carecía de una metodología para pasar de lo particular a la general y no existían, tampoco, criterios objetivos para juzgar la eficacia de los tratamientos prescritos. Los primeros cincuenta años del siglo XX fueron, por ello, un periodo de transición.

Aunque existía la necesidad de introducir rigor en la clínica, este objetivo no llegó a concretarse en dicho tiempo. La mayor parte de los médicos de la época tenían una mentalidad premoderna. Hacían pocos esfuerzos para participar en la investigación experimental, no habían aprendido aun a desconfiar de las hipótesis no sometidas al control de los hechos y tenían dificultades para poner en duda lo afirmado por otros, especialmente por sus predecesores de prestigio. Su aproximación a la medicina era más bien descriptiva que científica. A pesar de ello fueron buenos médicos. Sabían reconocer y analizar los signos y síntomas de enfermedad, jerarquizarlos y agruparlos según las necesidades del diagnóstico y sabían utilizar su experiencia para relacionar los problemas de un paciente determinado con los de otros casos semejantes, pero su medicina carecía de capacidad innovadora.

Por ejemplo, la fiebre tifoidea era, en vísperas de la segunda guerra mundial, una enfermedad grave, frecuentemente mortal. Su tratamiento se resumía en dieta (debido a las diarreas y al riesgo de perforación intestinal asociados con su desarrollo) y baños fríos (en razón de los violentos accesos de fiebre que acompañaban su evolución).

Cuando algunos médicos empezaron a preguntarse cuál era la utilidad real de los baños fríos y si la dieta, en organismos consumidos por semanas de fiebre, no era más peligrosa que el riesgo de perforación intestinal, la respuesta general fue un encogimiento de hombros. Dieta y baños fríos constituían el dogma y se consideraba que discutir éste era signo de ignorancia cuando no de insolencia. Ausente una metodología para evaluar su eficacia, uno y otro tratamiento habían entrado en el reino de las costumbres y tuvo que pasar mucho tiempo antes de que la duda, el espíritu crítico y el razonamiento científico fuesen introducidos en el proceso educativo de los médicos.

Uno de mis maestros, Maurice Tubiana, Presidente hoy de la Real Academia Nacional de Medicina Francesa, al recibir, en 1968, el encargo del gobierno francés de reorganizar los estudios de medicina, tuvo buen cuidado de evitar que el sistema formativo transformase, a lo largo de siete años de estudio intensivos, la excelente materia prima que son los estudiantes en médicos rutinarios poco aptos para la innovación creadora. El método docente elegido para la reforma consistió en la integración de la enseñanza de las ciencias fundamentales con la formación clínica con el objetivo de aplicar al razonamiento médico igual exigencia lógica que a la experimentación científica. El sistema de formación médica, decía Tubiana, no debe tener como finalidad esencial la adquisición de conocimientos sino el desarrollo del razonamiento delante de una enfermedad o de un enfermo. Ahora, cuarenta años después, cuando soplan vientos de reforma en la educación médica europea convendría no olvidar el precedente descrito y, dentro de lo posible, orientar la formación, no hacia la acumulación de conocimientos, sino hacia la adquisición por los estudiantes de aptitudes y hábitos de pensamiento lógico.

Sería injusto ironizar, sin embargo, sobre la competencia profesional de los médicos del periodo descrito. Tampoco se debe pensar que dicho periodo fue estéril. Nuevos medicamentos y sistemas de prevención y un número creciente de exámenes paraclínicos se introdujeron en la medicina. La utilización médica de los rayos X (descubiertos en 1895) permitió, por ejemplo, eliminar los obstáculos a los que se enfrentaba entonces la medicina: tener que esperar a la muerte para ver las lesiones y relacionar éstas con el cuadro clínico de los pacientes. La interacción entre técnica y clínica renovó el ejercicio de

la medicina. Mejoraron progresivamente la sensibilidad y resolución de las imágenes, los diagnósticos se hicieron más precisos y el despistaje radiológico (en escuelas, hospitales, cuarteles y fábricas) de algunas enfermedades muy extendidas en la época, como la tuberculosis pulmonar, impulsó el desarrollo de la medicina social. La radiología hizo evolucionar la concepción misma del acto médico y preparó el camino para el advenimiento de la biomedicina.

LA ACELERACIÓN DE LOS DESCUBRIMIENTOS CIENTÍFICOS Y LA SEGUNDA GUERRA MUNDIAL

La aceleración del ritmo de los conocimientos médicos fue precedida, una vez más, en la segunda mitad del siglo XX, por los avances científicos y tuvo como elemento desencadenante fundamental la segunda guerra mundial. Por la ruptura brutal que imponen a la evolución del pensamiento, por el empuje que recibe la investigación, las guerras son causa frecuente de tales avances. Así, el periodo de tiempo que va de 1919 (año en el que Ernst Rutherford dividió por primera vez el átomo) a 1933 (en el que su discípulo James Chadwick descubrió el neutrón) constituyó una época dorada para la física en la que apenas pasaba un año sin que se realizase un descubrimiento trascendental. La mayoría de los trabajos relevantes de esta época (la aproximación de Bohr entre la física y la química, el principio de exclusión de Pauli, la mecánica ondulatoria de Schrödinger, el universo en expansión de Hubble, el teorema de Gödel) tuvieron su origen en tres lugares distintos de Europa: el Laboratorio Cavendish de Cambridge, en Inglaterra, el Instituto de Física Teórica de Copenhague, en Dinamarca, y la vieja ciudad de Gotinga, cerca de Marburg, en Alemania.

La penicilina, el radar, el motor de reacción y la energía nuclear son, por otra parte, algunos de los descubrimientos realizados bajo presión de la guerra. A esto hay que añadir la fuerte concentración de científicos producida en los Estados Unidos como consecuencia de la persecución nazi. Albert Einstein, Leo Szilard, Enrico Fermi y otros muchos fueron desposeídos de sus credenciales académicas y forzados a emigrar. La investigación científica alcanzó con ellos, en

los Estados Unidos, una altura inigualable, extendida a nuestros días (como es bien sabido, siete científicos estadounidenses han sido distinguidos con los Premios Nóbel de Física, Química, Medicina y Economía 2004). Consecuencia del trabajo realizado han sido tres líneas de pensamiento que siguen vigentes en nuestros días. La primera tiene que ver con las aplicaciones de la energía nuclear. La segunda está definida por la utilización de la metodología física en biología. La tercera viene dada por el cambio de orientación experimentado por la medicina.

Sesenta años después de las explosiones nucleares de Hiroshima y Nagasaki, el nivel de discusión acerca de los efectos devastadores sobre poblaciones humanas de la bomba atómica sigue siendo muy agudo en la sociedad actual, hasta el punto de que las decisiones políticas de muchos Estados están basadas en la amenaza o la capacidad de disuasión asociadas con su disponibilidad. En contrapartida a sus aplicaciones militares, la utilización con fines pacíficos de la energía nuclear y, en particular, el empleo de los isótopos radiactivos en medicina clínica e investigación, ha demostrado una eficacia prodigiosa y hecho posibles descubrimientos y hallazgos biomédicos difícilmente imaginables. Por otra parte, el concepto relativo a la «variabilidad» de los hechos biológicos ha propiciado el desarrollo espectacular de la bioestadística, algunos de cuyos instrumentos, los ensayos clínicos y los estudios prospectivos sobre todo, han reforzado considerablemente el carácter científico de la medicina.

PRINCIPIOS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR: SÓLIDOS APERIÓDICOS

La decisión de aplicar a la biología el rigor metodológico de la física data de la década de los cuarenta del pasado siglo. Un pequeño libro, *¿Qué es la vida?*, escrito en Dublín en 1944 por Erwin Schrödinger, figuró entre las lecturas preferidas de Francis Crick e indujo a éste a interesarse por la investigación sobre la estructura química de los genes. «Leí el libro de Schrödinger», ha escrito Crick, «y aunque sólo más adelante logré ver sus limitaciones, creaba la sensación de que

cosas importantes estaban a la vuelta de la esquina». La intención de Schrödinger al escribirlo fue doble: poner en relación los conceptos orden termodinámico y complejidad biológica de los seres vivos y plantear en el campo de la filosofía las cuestiones relativas al determinismo y el azar. Formuló, además otras preguntas: cuál era la estructura física de las moléculas que se duplican cuando se dividen los cromosomas, cómo debía entenderse el proceso de duplicación y cómo retienen estas moléculas su carácter invariante de generación en generación. A Schrödinger le preocupaba, en suma, el hecho de que siendo muy inestables y efímeros los acontecimientos a nivel atómico, los organismos vivos mostrasen una gran estabilidad.

El capítulo sobre termodinámica y biología de dicho libro no tiene desperdicio. La sucesión de acontecimientos en el ciclo vital de un organismo vivo cualquiera exhibe una regularidad y un orden admirables. Responsable de ambos fenómenos es un reducido grupo de átomos, muy bien organizado, que representan una mínima fracción del conjunto total de átomos de una célula (en 1944 se sabía ya que el tamaño del material hereditario era diminuto). El concepto de mutación, desarrollado por Delbruck, había conducido, además, a la conclusión de que la dislocación de sólo unos cuantos de los «átomos gobernantes» bastaba para producir un cambio definido en las características hereditarias del organismo en cuestión.

Por otra parte, comoquiera que las leyes generales de la física predicen que la tendencia general de los fenómenos es ir hacia el desorden, los científicos, escribió literalmente Max Delbruck en una ocasión, para reconciliar la elevada durabilidad del material genético con su minúsculo tamaño, tuvieron que atribuir al material hereditario naturaleza molecular. Inicialmente se pensó que dicha molécula era una proteína para, posteriormente, una vez publicados los trabajos de Avery y Hershey en bacterias y bacteriófagos, respectivamente, concluir que se trataba de ADN, una molécula infrecuentemente grande (obra maestra de un orden altamente diferenciado) protegida por las reglas de la mecánica cuántica. La importancia de los descubrimientos que identificaron al material genético como ADN consistió en que convirtieron el problema del gen en una cuestión no simplemen-

te genética sino también química. A partir de este momento, la identificación de su estructura fue una cuestión de tiempo.

¿Cómo puede ser, se preguntaba en 1926 el genetista Thomas H. Morgan en relación con la estructura de los genes, que, tratándose de moléculas orgánicas, se conserven éstas invariables en el proceso reproductivo? Es verosímil pensar —razonó Morgan— que el gen, más que una molécula, debe ser una estructura, es decir, un conjunto de moléculas relacionadas entre sí por vínculos químicos. Esta idea, revolucionaria entonces, resulta hoy familiar para todos aquellos que conocen lo que la biología molecular ha supuesto, desde los trabajos de Watson y Crick, para el esclarecimiento de la transmisión de los caracteres hereditarios de una células a otras.

Desde el punto de vista de la estructura de la materia, los conceptos de molécula, sólido y cristal son equivalentes. La razón de ello estriba en que los átomos —muchos o pocos— que forman una molécula están unidos por fuerzas de naturaleza idéntica a la de los átomos que constituyen un sólido auténtico, un cristal. En esta solidez se basa el concepto de «permanencia» de los genes. La cuestión realmente importante en relación con la estructura de éstos consiste en determinar si los átomos constitutivos de los mismos están ligados entre sí por las denominadas fuerzas «solidificantes» de Heitler-London (enlaces covalentes) características de los cristales. Hoy sabemos que los enlaces químicos responsables de la configuración molecular del ADN son de doble naturaleza: covalentes por un lado (enlaces azúcar-fosfato y azúcar-bases nitrogenadas) y enlaces tipo puente de hidrógeno por otro (dos en el binomio adenina-timina y tres en la pareja citosina-guanina).

No es necesario, para los fines de esta exposición, especificar la naturaleza de las fuerzas físicas que intervienen en las interacciones descritas. Uno y otro tipo de enlace difieren entre sí por la energía de las asociaciones que forman: 5 a 20 kilocalorías (por unión) en los enlaces «fuertes» (covalentes) y 1 a 2 kilocalorías (por unión también) en los enlaces «débiles» (puentes de hidrógeno). De ello se infiere que las estructuras definidas por interacciones débiles sólo pueden alcanzar una cierta estabilidad por intermedio de interacciones múltiples. Como, por otra parte, las interacciones débiles no son operativas si los átomos que las configuran están alejados entre sí,

dos moléculas o regiones moleculares (dos bases nitrogenadas, por ejemplo) no podrán establecer una asociación por puentes de hidrógeno a menos que las dos moléculas dispongan de «areas complementarias» que permitan a los átomos de una entrar en contacto con los átomos de la otra.

Estas nociones son muy importantes en biología molecular y explican la complejidad del trabajo que hubieron de resolver Watson y Crick (utilizando para ello, por recomendación de Linus Pauling, la construcción de modelos moleculares) antes de llegar a la conclusión de que las bases nitrogenadas se disponían en el interior de la doble hélice conforme al emparejamiento A-T/G-C, verdadera clave en el proceso de replicación del ADN.

De las consideraciones anteriores se deduce que una molécula, grande o pequeña, puede ser considerada como «germen de un sólido». Partiendo de uno de estos gérmenes sólidos, existen dos caminos diferentes para construir asociaciones moleculares mayores. Uno de ellos consiste en repetir una y otra vez, en las tres direcciones del espacio, la misma estructura. Este es el camino elegido por los cristales en crecimiento. Una vez establecida la periodicidad, no existe un límite definido para el tamaño de los mismos. El otro camino consiste en ir construyendo agregados cada vez mayores sin el recurso a la repetición. Este es el caso de las moléculas orgánicas en las cuáles cada átomo o grupo de átomos se comporta de modo independiente de los restantes. A las estructuras así definidas se las denomina «cristales aperiódicos». Desde mucho tiempo antes del descubrimiento de su estructura química se sabía que la sustancia hereditaria era un sólido aperiódico.

Este hecho es, probablemente, uno de los más interesantes que la ciencia haya revelado jamás. La propiedad de un organismo de concentrar sobre sí mismo una «corriente de orden» y «absorber orden» del medio ambiente en el que se desenvuelve su función (escapando así al desorden molecular impuesto por el segundo principio de la termodinámica) está conectada con la presencia en su estructura básica de sólidos aperiódicos, que representan, por ello, el grado más elevado de asociación atómica que conocemos. Tanto si nos parece extraño como si no, el que un pequeño grupo de átomos sea capaz de actuar

de esta manera no tiene precedentes. Sólo se da en la materia viva. El «mecanismo de orden» que dirige el desarrollo de la vida parece, en principio, distinto del «mecanismo de probabilidades» (orden a partir del desorden) que sigue la naturaleza, el único que hace posible la comprensión del carácter evolutivo de los acontecimientos naturales, especialmente el de su irreversibilidad. Pero la diferencia entre ambos mecanismos es sólo aparente.

Max Planck, en una publicación sobre «leyes estadísticas» y «leyes dinámicas» había demostrado tiempo atrás que el tipo estadístico de ley que controla acontecimientos de gran escala (como el movimiento de los planetas) o fenómenos puramente mecánicos (como el movimiento de un reloj de péndulo) responde, en realidad, a las leyes que gobiernan los acontecimientos a pequeña escala, es decir, la interacción de moléculas y átomos concretos. Sin cuerda, un reloj se para después de escasas oscilaciones del péndulo. Su energía mecánica se transforma en calor, proceso infinitamente complicado a nivel atómico. ¿Cuándo un sistema físico presenta «caracteres de mecanismo de relojería», se preguntaba Planck? La teoría cuántica ofrece una respuesta muy breve a esta pregunta: en el cero absoluto de temperatura. Al aproximarse a dicha temperatura el desorden molecular deja de tener influencia sobre los fenómenos físicos. Este es el famoso «teorema del calor» de Walther Nernst.

En los diferentes sistemas físicos ¿cuál es la temperatura que puede considerarse prácticamente equivalente a cero? En sistemas mecánicos constituidos por cuerpos sólidos (el reloj de péndulo, por ejemplo) esta temperatura es la ambiental, hipótesis que puede generalizarse para todos los cuerpos sólidos dependientes en su estado de los enlaces de Heitler-London, suficientemente fuertes como para descartar la tendencia desordenada del movimiento térmico a la temperatura ordinaria. La semejanza última entre los sistemas de relojería y los organismos vivos radica en que la base de éstos es un sólido, el cristal aperiódico constitutivo del material hereditario, protegido por su estructura del desorden molecular producido por el baño térmico a que están sometidos en la naturaleza todos los cuerpos.

LA CONEXIÓN FÍSICA DEL ADN

En 1946, James Summers recibió el Premio Nóbel de Química por la caracterización proteica de los enzimas. Posteriormente, Beadle y Tatum, trabajando con hongos «neurospora» observaron que a cada uno de los mutantes analizados le faltaba un único enzima y acuñaron el famoso lema «un gen – un enzima». Los genes utilizan, por tanto, para sus fines proteínas concretas. Algunas de ellas sirven para formar estructuras o transportar señales. La mayoría catalizan las reacciones químicas celulares. Su dotación genética determina, por tanto, de qué modo las células metabolizan, crecen o interaccionan una con otras.

A comienzos de la década de los cuarenta se sabía, también, que las proteínas eran polímeros formados por un cierto número de pequeñas moléculas (aminoácidos) ordenadas conforme a un alfabeto elemental compuesto por veinte letras. No se conocía entonces que en cada proteína las letras tienen que estar en un orden específico aunque Sanger demostró pronto que esto era así. Las proteínas parecían tener, además, forma propia, fibrosa una veces, compacta o globular otras y se sabía también que su función dependía de su estructura tridimensional.

Antes del descubrimiento de la doble hélice, Crick formuló teóricamente la respuesta correcta a la pregunta sobre cómo se expresa la función de los genes. La idea básica fue la siguiente: «lo único que debía hacer un gen era inducir la secuencia de aminoácidos correcta de la proteína relacionada con él; una vez que la cadena polipeptídica se hubiese sintetizado, la proteína se plegaría, según las reglas de la química, en una estructura tridimensional única». Pauling llamó hélice alfa a dicha estructura. A partir de la formulación de este principio, afirma Crick, la determinación de la estructura química de los genes se convirtió de un dilema intratable en un problema manejable. Así fue como se concentró la atención de los investigadores sobre el ADN.

Después de un excelente trabajo, mediante el que liquidó la hipótesis de tetranucleótido para el ADN, Erwin Chargaff, refugiado austriaco en los Estados Unidos y profesor la Universidad de Columbia, sugirió para el mismo el carácter de polímero con sólo cuatro letras

en su alfabeto en lugar de veinte. Chargaff demostró que los ADN procedentes de distintas fuentes tenían cantidades diferentes de estas cuatro bases (así se llamaron) y evocó la posibilidad de que el ADN fuese una molécula suficientemente grande y variada como para contener información genética. Cuando Avery puso de manifiesto que el factor transformante de la cubierta lisa del neumococo era ADN puro quedó reforzada la hipótesis de que los genes podían estar constituidos sólo por ADN. El camino que condujo al descubrimiento de la estructura química del ADN no hubiese sido posible, sin embargo, sin el recurso a la **difracción de rayos X**, un método de análisis de estructuras moleculares surgido, una vez más, del corazón de la física.

El estudio de los cristales de proteínas por difracción de rayos X había sido fundado, antes de la segunda guerra mundial, por John D. Bernal. Previamente, Lawrence Bragg, había establecido la ley básica de difracción de rayos X que lleva su nombre y por la que le fue concedido el Premio Nóbel de Física. Cuando Francis Crick llegó al Cavendish, su director era Bragg y el responsable de los estudios de difracción de proteínas era Max Perutz, con quién inició su tesis doctoral. La labor de dirección del Cavendish la habían ejercido previamente científicos tan importantes como Maxwell, Thomson y Rutherford, entre otros. Durante muchos años, el Cavendish estuvo a la vanguardia de la investigación en física básica.

Con rayos X de longitud de onda aproximadamente igual a la distancia que separa dos átomos vecinos en una molécula orgánica (1 Angstrom), el patrón de difracción de los mismos puede aportar, en circunstancias óptimas, suficiente información para determinar la posición de los diferentes átomos en la molécula estudiada. Exactamente, el diagrama de difracción lo que muestra es la densidad de los electrones que rodean los núcleos atómicos en forma de puntos concretos, hecho que Bragg había demostrado años antes en la difracción de estructuras tridimensionales regulares (la menor masa de los electrones hace que la dispersión de los rayos X se realice predominantemente a su nivel).

La difracción de rayos X tiene, no obstante, una importante limitación. Incluso si los átomos del cristal analizado son tan regulares que los puntos de rayos X correspondientes a detalles minúsculos de

la estructura fuesen registrados, los cálculos matemáticos (transformadas de Fourier) demuestran que la información obtenida es aproximadamente igual a la mitad de la necesaria para la determinación de su estructura tridimensional. Esto equivale a decir que muchas estructuras tridimensionales con densidad electrónica similar pueden dar los mismos puntos, sin que sea fácil decidir, en un estudio de difracción determinado, cuál es la verdadera naturaleza del preparado sometido a estudio.

Crick adquirió con Perutz un conocimiento profundo sobre cristalografía de rayos X y enseñó a Watson los principios generales del método de difracción. Ideó, incluso, una modificación al mismo (la denominada «sustitución isomórfica») consistente en la incorporación de átomos pesados (Hg) a la molécula de proteína a analizar con objeto de incrementar la difracción de los rayos X y obtener mayor información de su estructura. Esta formación le ayudó sobremedida a comprender la significación biológica de los patrones de difracción de rayos X del ADN obtenidos por Maurice Wilkins y Rosalind Franklin en el King's College de Londres.

PENSAMIENTO Y EXPERIMENTACIÓN EN EL DESCUBRIMIENTO DE LA ESTRUCTURA DEL GENOMA

Para los que aun no sepan cómo fue descubierta la doble hélice, la lectura del discurso del nuevo académico resultará, sin duda, muy ilustrativa. Personalmente, me gustaría añadir a su contenido algunos matices de interés. Watson y Crick no hicieron trabajo experimental de ninguna clase con ADN, aunque hablaban ininterrumpidamente sobre ello. Siguiendo el ejemplo de Pauling, entendieron que la manera de descifrar la estructura consistía en construir modelos y, así, utilizando los datos experimentales del grupo de cristalógrafos de Londres y las reglas de Chargaff sobre la abundancia relativa de las cuatro bases en distintos tipos de ADN propusieron para el mismo un modelo de estructura que finalmente resultó ser correcto. El hecho clave fue la determinación, por Watson, de la naturaleza exacta de los pares de bases. No lo logró por lógica sino por casualidad.

Buscando algo interesante, Watson reconoció inmediatamente el significado de los pares de bases (A-T, G-C) cuando los vio por azar al construir uno de sus modelos. Como ya ocurriera con Fleming en 1928, «el azar favorece a la mente preparada».

Durante la primavera y el verano de 1953, Watson y Crick publicaron cuatro artículos sobre la estructura y función del ADN. El primero de ellos apareció en *Nature* el 25 de Abril junto con dos artículos del King's College, uno de Wilkins, Stokes y Wilson y otro de Franklin y Gosling. Los dos «viejos pícaros», como los llamó Wilkins, dijeron ignorar el contenido de estos dos últimos trabajos y declararon estar muy contentos por lo mucho que las fotografías de difracción de rayos X apoyaban su modelo. Más tarde, reconocieron haber visto la famosa foto de rayos X «helicoidal» de una forma B de ADN obtenida por Franklin, aunque los detalles necesarios para poder introducir en su modelo las funciones y distancias de Bessel les pasaron desapercibidos. Watson y Crick han afirmado, por separado que, de no haber formulado ellos su propuesta sobre la doble hélice, Franklin y Wilkins, una vez dejadas aparte sus diferencias personales sobre la paternidad de la investigación y examinados con detenimiento sus diagramas de difracción habrían acabado por hacerlo. Sólo les faltó darse cuenta que las dos cadenas del ADN corrían en direcciones opuestas y que las bases, en sus formas tautoméricas correctas, se emparejaban de determinada manera.

La gloria del descubrimiento correspondió a Watson y Crick por un conjunto de circunstancias entre las cuáles cabe mencionar las siguientes: 1) uno y otro estaban decididos a descubrir qué eran los genes y esperaban que la determinación de su estructura facilitaría las cosas; 2) su formación era complementaria: Crick sabía más sobre proteínas y difracción de rayos X que Watson y éste superaba al primero en fagos y genética bacteriana; 3) conocían bien cómo Pauling había descubierto el plegamiento correcto (hélice alfa) de las proteínas y fueron, por ello, conscientes de las limitaciones que imponían las distancias y ángulos interatómicos y cómo, al postular que la estructura del ADN era una hélice regular, se reducía drásticamente el número de parámetros libres (Rosalind Franklin pensaba, en cambio, erróneamente, que dilucidar la estructura probando modelos

varios y empleando un mínimo de datos experimentales era demasiado superficial); 4) fueron capaces de plantear un discurso intelectual sin quedar atrapados por ideas equivocadas o insostenibles y fueron, asimismo, implacables en el rechazo de los razonamientos débiles y/o poco sistemáticos.

Watson insistió mucho, por ejemplo, en que los fosfatos debían estar en la parte interna de la estructura y las bases fuera. Su razonamiento era que así se facilitaría la «penetración interna» de los aminoácidos de las protaminas e histonas (proteínas asociadas al ADN) para contactar con los grupos fosfato ácidos. Cuando Crick argumentó que esta hipótesis era endeble y propuso construir modelos con los fosfatos en el interior, Watson desechó su idea inicial porque «así se podrían hacer muchos modelos». Watson y Crick acertaron en la predicción de que el problema central de la biología molecular era la estructura química del gen (el genetista Herman Muller ya lo había sugerido a principios de los años veinte) y para su elucidación realizaron una inversión intelectual impresionante pues acercarse a esta cuestión en 1950 exigía estudiar a fondo biología, genética, bioquímica, química, química-física y matemáticas y discutir de forma interminable sobre todo ello.

El recibimiento dispensado a la doble hélice en el mundo científico fue desigual. Franklin aceptó inmediatamente el modelo propuesto y Bragg, tan pronto como advirtió la hipótesis básica del mismo (el apareamiento de las bases), se mostró entusiasmado. Delbruck hizo distribuir copias de los tres primeros artículos de *Nature* en la reunión anual del Cold Spring Harbor y se incluyó en el programa de la misma una conferencia de Watson sobre el ADN. Arthur Kornberg, receloso al principio, aceptó el mecanismo de copia del material genético propuesto tan pronto como empezó a trabajar en la replicación del ADN. Chargaff se mostró, en cambio, renuente (el segundo artículo de *Nature* sobre las implicaciones genéticas de la estructura no le pareció bueno) y Fritz Lipman, que se había ocupado de organizar un ciclo de conferencias de Crick en el Rockefeller, no tuvo claro hasta el final las ideas básicas del modelo. En realidad, la estructura en doble hélice del ADN sólo fue definitivamente confirmada a principios de los años ochenta. Tuvieron que transcurrir trein-

ta años para que el modelo de ADN pasara a ser de «plausible» a muy plausible» y de aquí a ser básicamente correcto.

En el orden social, las cosas sucedieron de otro modo. Se escribieron libros (*Life Story, The Double Helix, The Eight Day of the Creation, What Crazy Aim*), se emitieron reportajes de televisión y se hicieron películas. Cuando se pusieron de moda las chapas, un químico-físico, Paul Doty, preguntó al ver escrito, en Nueva York, en una de ellas el rótulo ADN, qué era aquello. «Cómprate una, colega» respondió el vendedor, «esto es el gen». Y el mismo Crick refiere que la cantante de un club de Honolulu le confesó un día las veces que le había maldecido a él y a Watson a causa de las cosas tan difíciles sobre el genoma que había tenido que aprender en las clases de biología. Sin embargo, expuestas adecuadamente, las ideas necesarias para comprender la estructura del ADN son sencillas y no van en contra del sentido común, contrariamente a lo que sucede con la relatividad o la mecánica cuántica.

Existe una buena razón para explicar la simplicidad de los ácidos nucleicos. El hombre moderno tal vez tenga 50.000 años de antigüedad y la civilización existe desde hace no más de 10.000 años. El ADN y el ARN existen, en cambio, desde hace por lo menos varios miles de millones de años. Probablemente, datan de los tiempos del origen de la vida o se hallan próximos a él. Los mecanismos tenían que ser, entonces, muy simples pues de lo contrario la vida no habría empezado. En el fondo, el ADN es una molécula mucho menos sofisticada que una proteína globular y por esta razón revela sus secretos más fácilmente. Esto no podíamos saberlo por anticipado. La suerte, el ingenio, la tenacidad y el afán de conocimiento del hombre han permitido desvelar tan importante y hermosa estructura.

EL CÓDIGO GENÉTICO Y EL SISTEMA PERIÓDICO DE LOS ELEMENTOS

La doble hélice no fue el final sino el comienzo de un proceso en el quedaron inscritas las ideas que dieron lugar a la replicación del genoma, la síntesis de proteínas y la ingeniería genética. Desde antes

del descubrimiento de la estructura del ADN se sabía que los genes determinan la secuencia de aminoácidos de las proteínas. Al ver que el esqueleto de la doble hélice era tan regular, Crick y Brenner supusieron que era la secuencia de bases la que transportaba esta información y puesto que el ADN estaba en el núcleo celular y la síntesis proteica parecía tener lugar en el citoplasma imaginaron que una copia de cada gen debía ser enviada a éste. Como en el citoplasma existe gran cantidad de ARN y no hay ni rastro de ADN asumieron, correctamente, que el mensajero era el ARN.

Existía, además, un problema de información. Con veinte tipos distintos de aminoácidos y sólo cuatro bases tanto en el ADN como en el ARN (el uracilo sustituye en éste a la timina), una solución sería leer la secuencia del ADN de dos en dos bases. Ello daría sólo dieciséis (4x4) posibilidades, lo que parecía poco. Otra alternativa era leerlas de tres en tres, lo que daría sesenta y cuatro (4x4x4) combinaciones posibles. En principio, esto parecía demasiado. El código genético, a diferencia de la estructura del ADN, fue finalmente dilucidado mediante métodos experimentales, no por teorías. Contribuyeron a ello, principalmente, Nirenberg, Khorana y, en parte, Ochoa, junto a Crick y Brenner. El mensaje genético quedó cifrado, definitivamente, en grupos de tres bases a la vez (Sydney Brenner los llamó «codones»). En el código estándar, dos aminoácidos tienen sólo un codón, muchos tienen dos, uno tiene tres, varios tienen cuatro y dos tienen seis codones. Existen, además, tres codones para la «terminación de cadena» (el «inicio de cadena» es más complicado). De esta forma suman sesenta y cuatro codones. No hay ningún codón que no se use.

De algún modo, el código genético se encuentra en el centro de la biología molecular de la misma manera que la tabla periódica de los elementos constituye el centro de la química. Delbruck ha reconocido recientemente, en su libro *Mente y Materia*, que todo lo que sabemos hoy sobre biología molecular puede explicarse en términos químicos (físico-químicos tal vez). También sabemos que los principios de la biología molecular son fundamentales para la comprensión de los sistemas biológicos. Este es el núcleo de la cuestión. Prácticamente, todos los aspectos de la vida reconocen un origen molecular y sin conocer las moléculas sólo se puede tener un conocimiento parcial de

la propia vida. El código genético no debe considerarse, sin embargo, como una característica permanente de la naturaleza. Es, como la vida misma, una excepción, un accidente en el curso de la evolución, fruto del azar para los agnósticos, obra de la Providencia para los cristianos.

BIOTECNOLOGÍA E INGENIERÍA GENÉTICA

Una idea aproximada de los cambios producidos en la medicina, en la segunda mitad del siglo XX, la ofrece la comparación de un hospital de 1950 con otro del 2000, supuesta en ambos casos una dotación tecnológica acomodada a las posibilidades de la época. La riqueza y sofisticación de los instrumentos puestos a disposición de los médicos para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades ha sido, en dicho periodo, asombrosa. El paradigma del cambio producido es, de nuevo, de raíz radiológica. US, TAC, RM, SPECT, PETT, aceleradores lineales, ciclotrones de uso médico, partículas fundamentales (electrones, protones) y núcleos pesados en el tratamiento del cáncer constituyen una constelación de métodos y técnicas impensables hace algún tiempo.

La biología y la bioquímica clínicas han progresado, asimismo, de forma considerable. La dosificación de proteínas, hormonas y mediadores químicos diversos (citoquinas, inhibidores, factores de crecimiento), sistemas electrónicos para el análisis químico de metabolitos, dispositivos de separación e identificación molecular (cromatografía, electroforesis, fluorescencia, radioinmunoanálisis), la microscopía electrónica, la inmunohistoquímica y la ingeniería tisular, entre otros aspectos, dan una idea precisa de la revolución tecnológica experimentada. Un cambio semejante (comparable al descubrimiento de los antibióticos y de la energía nuclear), para cuya descripción utilizamos los términos biotecnología o ingeniería genética, parece estar en desarrollo hoy en el ámbito de la biología molecular.

El primer descubrimiento importante tuvo lugar en 1968 con la identificación y aislamiento, por Richardson y Weiss, de la ligasa, un enzima que puede unir fragmentos de ADN. Un año después, Arber

descubrió los enzimas de restricción (capaces de cortar el ADN por sitios determinados), que se utilizaron inmediatamente por Hamilton Smith para determinar el orden de los genes y analizar partes de los mismos. En 1971, Nathans demostró que el ADN del virus cancerígeno SV40 estaba formado por 5000 pares de bases y podía ser partido en once fragmentos distintos cuyo orden definió posteriormente. Finalmente, en 1973, una vez demostrado que se podían unir muy fácilmente trozos de ADN cortados con enzimas de restricción, Boyer y Cohen describieron un método para reordenar la estructura del genoma en un tubo de ensayo y producir moléculas híbridas procedentes de distintos ADNs. Nació así la tecnología del ADN recombinante (ADNr), de gran importancia actual.

Muy poco tiempo después de la introducción de la técnica del ADNr se iniciaron las primeras especulaciones y debates sobre las implicaciones de la tecnología genética en seres humanos. Parecía claro que la biología molecular, al permitir la manipulación del genoma, podía crear algo distinto: nuevas moléculas, nuevos genes, nueva vida. La organización «Science for People» fue muy activa en contra de esta posibilidad y numerosos científicos (Luria, Watson, Pollack, Berg) advirtieron tempranamente sobre los riesgos de la clonación humana. La Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos, a iniciativa del Comité Berg, llegó incluso a solicitar una moratoria mundial voluntaria en los experimentos de tecnología genética. Esta iniciativa no tiene precedentes en la historia de la ciencia. No la hicieron los físicos nucleares que participaron en el Proyecto Manhattan, aunque es cierto que después de Hiroshima y Nagasaki muchos de ellos (Maurice Wilkins, por ejemplo) derivaron hacia otros campos del conocimiento.

La moratoria, en todo caso, fue parcial. En 1987, se reconoció, en los Estados Unidos, el derecho a patentar animales domésticos transgénicos, esto es, producidos mediante ingeniería genética. En virtud de este acuerdo, en abril de 1988, se aceptó la patente de un ratón transgénico portador de un gen humano que produce cáncer en el animal dentro de los dos meses siguientes a su nacimiento (los ratones transgénicos han demostrado ser luego de enorme utilidad en la investigación oncológica). Myriad Genetics, la compañía biotecnoló-

gica que anunció hace algunos años el descubrimiento del primero de los genes asociados con el cáncer de mama hereditario (BRCA1), mostró rápidamente su intención de patentar el hallazgo.

Más adelante, en 1995, la oficina de patentes estadounidense respondió favorablemente a la solicitud de Anderson, Blaese y Rosenberg de patentar un «método de introducción en seres humanos de proteínas terapéuticas codificadas por fragmentos de ADN insertados en sus células». Esta patente, que inició lo que hoy llamamos terapia génica, fue concedida inicialmente a los Institutos Nacionales de la Salud aunque los investigadores descritos traspasaron pronto los derechos de explotación a una compañía privada (Genetics Therapy). Hasta el momento, la terapia génica no ha proporcionado los resultados que se esperaban de ella y como su utilización indiscriminada puede conducir a prácticas eugenésicas, he aquí un problema de orden ético general que la medicina tendrá que resolver en los años venideros.

LA BASE MOLECULAR DE LA MEDICINA ACTUAL

Gracias al desarrollo de la biología molecular, hemos aprendido, por otra parte, que pequeños cambios en la estructura de los genes pueden ser responsables de enfermedades concretas. En 1986, se identificó, en los Estados Unidos, el defecto genético responsable de un tipo de distrofia muscular, en 1989 se descubrió el origen molecular de la fibrosis quística y en 1993 se localizó el gen que produce la corea de Huntington. La lista de genes defectuosos relacionados con enfermedades específicas no ha dejado de crecer desde entonces. La artritis, el asma, numerosos tipos de cáncer, la diabetes, la epilepsia, las enfermedades de Alzheimer, Tay-Sachs y Lou-Gehrig, la esclerosis tuberosa, la espina bífida, la hemofilia, la hipertensión arterial esencial, la neurofibromatosis y algunos síndromes (Down, DiGeorge, Marian, Pendred, Williams) reconocen una causa génica.

El conocimiento de estos hechos ha enriquecido fuertemente a la medicina. Las determinaciones y análisis génicos que, si identifican taras hereditarias, permiten a los progenitores tomar decisiones sobre

su descendencia y, si muestran defectos somáticos, facilitan a los individuos afectados la adopción de medidas sobre su futuro, constituyen, sin duda, un signo de progreso. Pero existen otras derivaciones. El estudio de los polimorfismos genéticos, que ha demostrado la existencia de secuencias de bases sensibles a la acción de factores medioambientales diversos, puede condicionar el mercado de trabajo y, por vía de la selección de individuos genéticamente resistentes, conducir a la aparición de «nuevas clases o castas sociales», una idea ante la que retrocederíamos inmediatamente muchos de nosotros.

La biología molecular es, hoy, no sólo una disciplina básica que se proyecta en multitud de campos científicos (biología celular y evolutiva, microbiología, bioquímica, enzimología, oncología, epidemiología, medicina clínica). Es también un campo del conocimiento con una dimensión industrial considerable (el Proyecto del Genoma Humano es ciencia, qué duda cabe, pero también es, en gran medida, tecnología). La química farmacéutica, la agricultura, la ganadería, la industria de los alimentos hacen uso de sus técnicas con una velocidad creciente. Considero justificadas, por ello, las palabras de Sánchez Ron cuando afirma que «las aplicaciones de la biología molecular constituyen la última revolución científica del siglo XX», una revolución que, dado el carácter ambivalente de la ciencia, proyecta sobre nosotros luces y sombras.

CONCLUSIÓN

¿Cómo compatibilizar las ventajas y riesgos derivados de su uso? ¿Renunciaremos a ella? ¿Nos tentará en el futuro la idea de ser más fuertes, más resistentes a las enfermedades, más inteligentes, mejor preparados en el orden emocional o afectivo? ¿Debe la razón científica estar situada por encima de la razón humana?

No lo sé. Sólo sé, profesor Gómez Capilla, mi querido amigo, que, en medio de las dudas que nos asaltan, con la inseguridad y el error incrustados en la médula de nuestra existencia, comparto contigo la necesidad y reconozco la fuerza consoladora del Espíritu Santo, ese soplo profundo y vivificador que invocamos algunos universitarios al

comienzo de cada curso académico para afrontar nuestras responsabilidades. Que El nos proteja y ayude en el encuentro con nuestro destino y que a ti, particularmente, te abra de par en par las puertas de esta Real Corporación que hoy te recibe oficialmente.

He dicho.