

CONFERENCIA MAGISTRAL**DESARROLLO DE LA GENÉTICA Y LA MEDICINA GENÓMICA ***

Fabio Salamanca**

Agradezco esta honrosa distinción al Comité Organizador de la Reunión de Investigación, particularmente al doctor Gerardo Heinze, Director del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, que me permite referirme a los más sobresalientes desarrollos de la Genética Humana en los últimos años, en esta conferencia que honra la memoria del doctor Raúl Hernández Peón, uno de los más ilustres investigadores de la ciencia nacional.

Las aportaciones del doctor Hernández Peón en el campo de la Neurofisiología tuvieron notable repercusión internacional y su destacada actividad docente dejó profunda huella en la medicina nacional y en el ámbito latinoamericano.

No es el momento de referir aquí sus múltiples y señalados logros. Baste mencionar que el emocionado tributo póstumo quedó para la historia, plasmado bajo la pluma eminente del maestro Ramón de la Fuente, en las páginas de la *Gaceta Médica de México* (12), órgano oficial de la Academia Nacional de Medicina y publicación médica latinoamericana que durante más años se ha publicado en forma ininterrumpida.

Desde tiempos inmemoriales, el hombre se ha dado cuenta de la asombrosa multiplicidad y diversidad de formas de los seres vivientes y se ha interrogado acerca de los complejos enigmas de la herencia. Seis siglos antes de Cristo, los filósofos jónicos creyeron que los organismos vivos se originaron a un lado del mar. Aristóteles sostuvo que los animales surgían no sólo de otros animales sino también de la materia inerte por la acción de los cuatro elementos (aire, agua, fuego y tierra). Así llegó a afirmar que las luciérnagas surgieron del rocío y los ratones de la humedad del suelo. Durante mucho tiempo, estas ideas de la generación espontánea estuvieron en boga y se afirmaba que el agua engendraba los peces, los gusanos se originaban de los troncos podridos y de las mariposas procedían los pájaros.

Francesco Redi, médico florentino, refutó en el siglo XVII estas creencias erróneas al demostrar que en el lodo y en las sustancias en descomposición existían huevecillos que, al desarrollarse, originaban animales semejantes a aquellos de los cuales procedían. Sin embargo, se seguía sosteniendo que los microorganismos se originaban espontáneamente en los líquidos en putrefacción hasta que, en el siglo antepasado, Louis Pasteur enterró para siempre, con sus brillantes experimentos, estos falaces conceptos.

En relación con la trasmisión de las características hereditarias, una teoría muy difundida, que prevaleció hasta tiempos relativamente recientes, era la de que el padre implantaba una minúscula reproducción suya en el útero y que la función de la madre consistía solamente en proteger y alimentar al producto hasta que se hubiera desarrollado lo suficiente para nacer. Hipócrates sostuvo que "corpúsculos muy pequeños, que son copias en miniatura de cada parte del cuerpo, viajan por el torrente sanguíneo a los órganos sexuales y allí se ordenan para formar las células de la reproducción". De este modo, la descendencia tendría parte de órganos y tejidos maternos y paternos. Esta teoría pretendía explicar la herencia de los caracteres adquiridos, que Weismann se encargaría de refutar.

Otra suposición postulaba que las características se transmitían al mezclarse la sangre del padre con la de la madre, lo que originó expresiones que perpetúan esta otra falacia, como la de que un individuo tiene "buena o mala sangre", "sangre real" o "sangre pura". Todavía en la terminología genética moderna se sigue hablando de "consanguinidad" (58).

A pesar de que los seres vivos son tan diferentes entre sí, muestran sin embargo una notable unidad: todos están formados por millones de pequeños elementos que sólo pueden contemplarse con el auxilio del microscopio. Para designarlos, el científico inglés

*Conferencia Magistral "Dr. Raúl Hernández Peón" de la XIX Reunión de Investigación del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. Octubre 2004

**Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Apartado Postal 12:951, 03020 México.

Robert Hooke acuñó, en 1665, el término “células” (del latín *cellula*, pequeña cavidad), al observar bajo el microscopio cortes delgados de corcho que mostraban pequeñas y múltiples cavidades que semejaban las celdillas de un panal de abejas.

En 1831, Robert Brown, al estudiar las orquídeas, apreció dentro de las células un corpúsculo redondo, al cual denominó “núcleo”. Como sabemos, en este corazón de la célula se encuentran las claves de los profundos enigmas de la vida.

Tal vez ninguna ciencia tenga un origen tan claro como la Genética, surgida de un elegante experimento, que se condujo con todo cuidado y se interpretó en forma brillante (57). Sin embargo, sus contemporáneos no se dieron cuenta de la enorme trascendencia de los hallazgos de Mendel y aún hoy se siguen ignorando sus trabajos en ciertos círculos (59).

Un lustro después de la publicación del trabajo de Mendel, Friedrich Miescher aísla de los leucocitos un material viscoso, rico en fosfato, al que denomina “nucleína”, y que es la molécula de cuyo modelo estructural acabamos de celebrar su primer cincuentenario (60).

En los albores del siglo pasado, De Vries, Correns y Von Tschermak, redescubren las Leyes de Mendel, y poco tiempo después se puede establecer la base física o cromosómica de la herencia.

El develamiento de la estructura del ADN tuvo otros antecedentes importantes: Albrecht Kossel encuentra las cuatro bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina y timina) que constituyen esta molécula; Febo Aarón Levene sintetiza, ya con la desoxirribosa, un tetranucleótido cerrado, y Erwin Chargaff da un paso trascendental al observar que las concentraciones de la adenina son iguales a las de la timina, y las de la citosina corresponden a las de la guanina, lo cual sugiere la complementariedad de las cadenas.

En 1928, Griffith (19) había demostrado que las cepas avirulentas de los neumococos, al ponerse en contacto con cepas virulentas muertas, se convertían en virulentas porque alguna sustancia transformante inducía este cambio. En 1944, Avery, MacLeod y McCarty (3) demostraron que la transformación bacteriana era inducida por el ADN.

En este momento de la historia hay una irrupción afortunada de una pléyade de físicos notables que deciden incursionar en el campo de la biología y que forman el Grupo de los Fagos, cuya aventura intelectual se narra en el apasionante libro de Horace Freeland Judson (28). Sus iniciadores son Salvatore Luria y Max Delbrück, que habían sido estimulados por la obra seminal de Erwin Schrödinger *What is Life?* (66), quienes confirman de manera elegante que es el ADN de los fagos el que penetra en las bacterias y las transforma.

Mientras tanto, en relación con los estudios citogenéticos, una vez redescubiertas las leyes de Mendel, Sutton (71) propuso la teoría cromosómica de la herencia, Johannsen (27) acuña los términos de gen, genotipo y fenotipo, y Morgan y su grupo (44) describen la herencia ligada al cromosoma X y demuestran que los genes se ordenan de manera lineal en los cromosomas.

Tijo y Levan (73) describen en 1956 el número cromosómico normal de la especie humana y tres años más tarde se identifican las primeras cromosomopatías (38).

La década de 1950 es pródiga en hallazgos científicos revolucionarios. El más sobresaliente, desde luego, es el modelo de la doble hélice de Watson y Crick (78). En la figura 1 aparecen los dos jóvenes investigadores, 50 años atrás, en la célebre fotografía tomada por Anthony Barriington Brown en el Laboratorio Cavendish. Crick señala el modelo de la doble hélice con una regla de cálculo, instrumento que por primera vez en 50 años no ha sido reconocido por ninguno de los estudiantes de nuevo ingreso, el año anterior, a Cambridge. Los dos jóvenes se muestran aquí con esa actitud atrevida, desinhibida, temeraria y casi insolente que les permitiría comenzar y continuar su hazaña.

Al contemplar una fotografía reciente de los dos investigadores, con motivo del cincuentenario de su logro, es inevitable evocar las tribulaciones del ahora célebre personaje Tertuliano Máximo Afonso, quien pretendía enseñar la historia de adelante para atrás, en contraposición a la manera tradicional, y cuya trágica vida se narra en las páginas memorables del *Hombre Duplicado* del laureado escritor José Saramago (64).

El célebre trabajo titulado “Molecular structure of nucleic acids” apareció publicado en la revista *Nature* (78), el 25 de abril de 1953. Tiene sólo una página de extensión y el párrafo inicial es memorable: “Deseamos sugerir una estructura para el ADN, la cual tiene nuevos hallazgos, que son de considerable interés biológico”. Sólo dos autores firman el artículo y su orden de aparición se determinó al azar: ¡por un simple y elemental volado! En la actualidad, cuántos conflictos pungentes e irreconciliables surgen al establecer la lista y el orden de los autores en un trabajo científico, lo cual propician los criterios en boga para la evaluación curricular (60).

Hay que considerar, por otra parte, que la autoría ha sufrido una transformación radical en estas cinco décadas. El número de trabajos con veinte o más autores es cada vez creciente, particularmente en aquellos que tienen que ver con la secuenciación de los genes, y la situación es previsiblemente similar en la proteómica y, sobre todo, en la nanotecnología (62). Por lo anterior, cada vez resulta más difícil establecer cuál es la verda-



Fig. 1.

dera y real participación en el diseño y en la realización del trabajo de cada uno de los investigadores. Ha ocurrido en este lapso una genuina y verdadera "masificación" de la autoría, por lo que en el futuro cercano crecerá el número de artículos de autoría multiinstitucional, multicéntrica, de grupos y de consorcios. Cabe preguntarse si la autoría unipersonal, mono u oligoper-sonal, está condenada a desaparecer en unos cuantos años.

En el futuro, con el incremento de esta autoría grupal y de consorcios, serán obsoletos los actuales criterios de evaluación de la actividad de investigación, por lo cual la comunidad científica debe buscar nuevos y mejores métodos para evaluar esta fundamental actividad intelectual que, al paso de los años y en los albores de la presente centuria, ha diluido y difuminado la contribución estrictamente personal y se ha convertido en una masiva actividad grupal (63).

Por otra parte, el artículo de Watson y Crick cuenta con sólo seis referencias bibliográficas. Ese es otro cambio drástico y definitivo: en la actualidad, por el deseo deliberado e irrefrenable de incrementar las citas y por

la enorme facilidad para obtenerlas en Internet, también se ha incrementado en forma considerable el número de referencias de cada artículo científico. No sólo muchas referencias no son pertinentes, sino como ha sido demostrado lamentablemente en fechas recientes, ni siquiera son leídas (4).

En el artículo de Watson y Crick aparece solamente la fecha de su aceptación: el 2 de abril. Probablemente por pudor, el editor no se atrevió a consignar la fecha de recepción, porque en realidad entre una y otra debieron transcurrir sólo unas cuantas horas. Se cuenta ahora con un ejemplo extremo en que la importante contribución de Gusella y colaboradores (72), sobre los mecanismos etiopatogénicos en la enfermedad de Huntington, demorara la edición y en menos de ocho días se incluyera como último artículo en el número correspondiente de la revista *Cell*.

Como contraste, cabe mencionar el caso de Tobías Hales (20), cuyo artículo enviado hace cuatro años y que contiene la prueba que confirma la conjetaura de Kepler, propuesta hace 400 años, sobre el modo más eficiente para acomodar esferas - que curiosamente ha

sido solucionado ya en forma empírica desde hace centurias por los tradicionales vendedores de naranjas, que las colocan en forma piramidal en los mercados—sigue aún en proceso de revisión y no parece cercana su publicación.

Como el preludio a la celebración de 50 años, la revista *Nature* publicó un suplemento (49) en cuya portada se destaca la hermosa simetría de la doble hélice del ADN. Sólo hasta la celebración del cuadragésimo aniversario Crick especificó que ese bellísimo trazo se debía a las cualidades artísticas de su mujer María Odille Crick. No es infrecuente que en el campo de la Genética muchos de los logros obtenidos por nuestras colegas del sexo femenino no hayan recibido el reconocimiento que merecen.

Por su perfecta simetría y por su configuración en espiral, la doble hélice se convirtió pronto en un ícono emblemático para la ciencia y el arte. Para conmemorar este acontecimiento, el Reino Unido ha acuñado una moneda de colección de dos libras esterlinas.

El trabajo original de Watson y Crick se acompañó de dos artículos, uno de Wilkins y colaboradores (80), y otro de Franklin y su estudiante Goslin (16). Este último contiene la célebre fotografía de la difracción de rayos X del ADN en su forma hidratada, que claramente revelaba el patrón de una estructura helicoidal. Esta fotografía fue la que Wilkins mostró a Watson y Crick, sin que se enterara Rosalind Franklin.

Watson ha reconocido en la *Doble hélice* (76), libro que ha sido uno de los pocos grandes éxitos de la divulgación científica, que si Pauling, quien ya había descrito el primer ejemplo de una enfermedad en el nivel molecular y había logrado descifrar la configuración de las alpha-hélices de las proteínas (52), hubiera tenido acceso a los datos generados por Franklin, les habría ganado la carrera por encontrar el modelo estructural del ADN.

Constituye una gran paradoja y una enorme injusticia que Rosalind Franklin, quien falleció en 1958 a los 37 años por un cáncer de ovario, no haya alcanzado a recibir el Premio Nobel en Medicina otorgado a Crick, Watson y Wilkins en 1962, junto con Perutz y Kendrew en Química y John Steinbeck en Literatura.

Por insistencia de Crick, el famoso trabajo se cerró con este párrafo anticipatorio: “No se nos escapa que el apareamiento específico que hemos postulado inmediatamente sugiere un posible mecanismo para copiar (duplicar) el material genético”.

El reto de encontrar este mecanismo de replicación fue resuelto elegantemente cinco años más tarde por Meselson y Stahl (43), con el experimento que por an-tonomasia ha sido calificado como “el más hermoso de la biología”. Precisamente Holmes (23) publicó hace poco un espléndido libro que lleva este título.

El otro reto por desentrañar consistía en descifrar el código genético. Esta formidable tarea era similar a la que llevó a cabo Champollion al descifrar la piedra de Rosetta. Para dar con la clave de este código, la palabra fundamental fue Ptolomeo. Nirenberg y colaboradores (50) siguieron una estrategia muy inteligente: en un sistema *in vitro* colocaron un mARN constituido sólo por uracilos, la base nitrogenada exclusiva del ARN y encontraron que el oligopéptido formado contenía sólo fenilalanina, por lo que la primera triplete (codón) descubierta fue UUU, que se traducía por fenilalanina.

El desciframiento del código genético permitió entender el mecanismo de la mutación y cómo el cambio de una base nitrogenada por otra implica la sustitución de un aminoácido por otro, con lo cual se logró explicar lo que Pauling y colaboradores (53) habían demostrado en relación con la anemia de células falciformes.

Años más tarde, para explicar la regulación genética, Jacob y Monod (26) propusieron el modelo del operón, y Cleaver (7) encontró el primer ejemplo de una enfermedad en el humano ocasionada por fallas en los mecanismos de reparación del daño producido en el ADN por los agentes mutagénicos. Este hallazgo hizo reflexionar a Crick (9) sobre el hecho de que, al desarrollar el modelo del ADN, no tuvieron para nada en cuenta los mecanismos de reparación y proponía que, siendo tan especial, debiera haber muchas maneras de llevarlo a cabo.

Ahora podemos averiguar cuál fue la repercusión inmediata de la publicación del trabajo seminal de Watson y Crick. Sorprendentemente, muy poca en los años siguientes a su publicación. Olby (51) muestra cómo de 1953 a 1959 sólo cerca de la cuarta parte de los trabajos que versaban sobre el ADN mencionaban la doble hélice, y para 1960 lo hacía menos de la vigésima parte. Sin embargo, las citas se incrementaron después de que se estableció el código genético y cuando los autores recibieron el premio Nobel, y más todavía con el desarrollo del Proyecto del Genoma Humano y, por supuesto, con la celebración del medio siglo (70).

Es interesante observar cómo los diferentes investigadores conciben en un dibujo esta celebración del ju-bileo (69). Al dibujar la doble hélice Watson enfatiza el apareamiento de las bases; Meselson traza un gran interrogante en medio de las cadenas que se replican. A su vez, Collins, actual director del Proyecto del Genoma Humano, destaca los valores de la familia al dibujar a los padres y a los hijos. Jeffreys, descubridor de los polimorfismos que permitieron la identificación de los individuos mediante las “huellas digitales” del ADN, rubrica los valores de la libertad y la justicia. Por último, Gilbert, cuyos trabajos fueron fundamentales para

lograr la secuenciación del ADN, traza un gran interrogante, que probablemente apunta al futuro.

También reviste interés contemplar el desarrollo de la historia posterior de los dos célebres personajes. Watson se convirtió en un notable administrador y durante muchos años fue Director de Cold Spring Harbor, reconocido centro de investigación biomédica que realiza anualmente valiosos simposios internacionales, y fue el primer director del Proyecto del Genoma Humano.

Además del exitoso libro sobre la historia de la doble hélice (76), escribió textos fundamentales como *Molecular Biology of the Gene* y *Molecular Biology of the Cell*, una de cuyas ediciones muestra en la contraportada a los autores del texto, con Watson al final tocado con un sombrero, atravesando la calle a la manera del célebre cuarteto de Liverpool. También escribió el libro “Chicas, Genes y Gamow”, que es sólo un anecdotario superficial e intrascendente; pero se recupera ampliamente con su más reciente obra *ADN. El secreto de la vida*(77).

Crick, una de las mentes más brillantes del siglo pasado, siguió haciendo por su parte valiosas contribuciones a la ciencia: anticipó la existencia del ARN mensajero (mRNA), la del ARN de transferencia (tARN), y por lo mismo, la manera en que debía traducirse el código genético, postuló el “dogma de la biología molecular”, y en los últimos años se dedicó a enfrentar un nuevo reto en la neurobiología: escudriñar nuestra conciencia y profundizar en lo que nos hace verdaderamente humanos.

Para conmemorar el medio siglo de la doble hélice, escribió un artículo del que es primer autor, en la revista *Nature Neuroscience* (10), y en el cual, fiel a su costumbre, formula nuevas hipótesis y la manera de comprobarlas, sobre el entramado armónico de la conciencia. Constituye gratísima sorpresa que la ilustración de este artículo se deba también a las habilidades artísticas de Odille Crick, la esposa de Crick. La figura ilustra bellamente cómo una imagen estática sugiere movimientos y, al pie de la misma, la artista ha colocado muy modestamente las iniciales de su nombre, aunque ahora sí alcanza un explícito reconocimiento en la sección de agradecimientos del artículo.

Pocos meses después de cumplirse un año de la celebración del jubileo, Crick falleció en Estados Unidos. Como un homenaje póstumo, la revista *Nature Genetics* dedicó un número a su memoria, en cuya portada sobre fondo negro sólo destaca su nombre, Francis Compton Crick, y los años de su nacimiento y su muerte: 1916-2004.

En los prolegómenos de la celebración de la media centuria, Olby (51) recoge el relato de Ritchie Calder, periodista del *News Chronicle*, quien daba cuenta el 15

de mayo de 1953 del hallazgo de Watson y Crick, y afirmaba: “Este logro mantendrá ocupados a los científicos por los próximos 50 años”. Es seguro que los desarrollos que se vislumbran reclamarán la atención de la comunidad científica durante toda la presente centuria.

Sólo unas cuantas semanas después de la publicación del célebre artículo de Watson y Crick, Edmund Hillary, quien ahora ostenta el título de *Sir*, y su serpa Tenzing Norgay alcanzaban la cumbre más elevada que hay sobre la tierra. Tal como este ascenso pionero, el hito de la inteligencia del hallazgo de la doble hélice permitió descubrir nuevos e insospechados horizontes en que sobresalen como promontorios destacados la Biotecnología y el Proyecto del Genoma Humano.

No se hubiera llegado a ellos, sin embargo, sin el auxilio de descubrimientos muy notables y sin el desarrollo de nuevas metodologías. Los más destacados son los siguientes: la posibilidad de manipular en forma directa el material genético mediante el empleo de las *endonucleasas o enzimas de restricción*, descubiertas por Arber (1) y Nathans y Smith (48), merecedores también del premio Nobel. Estos inauguraron la era de la “nueva genética” y abrieron la compuerta para uno de los desarrollos más impresionantes de la época moderna: el advenimiento de la ingeniería genética y la biotecnología con la utilización de las técnicas del ADN recombinante.

Otros desarrollos de gran trascendencia han sido la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa, o PCR, por sus siglas en inglés, lograda por Mullis (45), la creación de cromosomas artificiales de levadura, o YACs (46) y más recientemente de cromosomas artificiales bacterianos, o BACs (13) y las técnicas multicoloreadas o multiespectrales de identificación cromosómica (39).

Con el desarrollo del Proyecto del Genoma Humano ha crecido en forma drástica la identificación de genes relacionados con patologías en el humano, se han identificado los polimorfismos de un solo nucleótido, o SNPs, que permiten el establecimiento de un mapa de haplotipos, o Hap-Map, y la identificación de genes de susceptibilidad para patologías cuyo comportamiento es poligénico o multifactorial.

Sin embargo, desde el punto de vista conceptual, el campo de mayor trascendencia de la genética humana, es el de discernir el componente genético de algo tan complejo como el comportamiento. Aunque existen notables deficiencias en el conocimiento de estos aspectos, los avances son alentadores porque permiten la identificación de genes de propensión, el diagnóstico más oportuno, incluso presintomático, un asesoramiento genético más adecuado y, a mediano y largo plazos, el desarrollo de medidas terapéuticas con el

empleo de la terapia génica o el de las células troncales obtenidas mediante el trasplante de núcleos somáticos.

Una aproximación interesante para tratar de discriminar el componente genético del ambiental en el comportamiento, en cualquier patología, pero principalmente en estos trastornos, es el estudio de la concordancia entre los gemelos monocigóticos (idénticos) y los dicigóticos (fraternos), ya que los primeros comparten la misma carga genética, mientras que los segundos tienen sólo 50% de sus genes en común. Para la esquizofrenia, por ejemplo, la frecuencia de concordancia entre gemelos monocigóticos es 10 a 15 veces mayor que la encontrada en los dicigóticos.

Una objeción que podría hacerse a estos estudios es que no cancelan totalmente las variables de tipo ambiental, ya que, por ejemplo, una madre psicótica puede influir con su comportamiento el de sus hijos, o factores ambientales comunes pueden favorecer la aparición del padecimiento. Por lo anterior, una nueva estrategia consistió en llevar a cabo estudios con hijos adoptivos. La concordancia entre los gemelos monocigóticos sigue siendo muy elevada, independientemente de la adopción, según los estudios pioneros de Kety y colaboradores (31) y de Kendler y colaboradores (30).

Sin necesidad de recurrir a metodologías un tanto complicadas como éstas, ahora es posible estudiar directamente los genes que influyen en el comportamiento. La revista *Science* ha dedicado un número entero, cuya portada es en sí reveladora, al estudio de los genes y el comportamiento, no sólo en mamíferos, sino también en humanos (67).

La primera localización de relevancia que constituye un parteaguas en sus implicaciones en el ejercicio médico es la del gen de la enfermedad de Huntington, localizado en 4p16, la cual reveló el mecanismo etiopatogénico de la amplificación de tripletas inestables (72). En este caso, la triplete amplificada por encima de 34 repetidos es CAG.

Como bien se sabe, ésta es una entidad autosómica dominante cuyas características clínicas se manifiestan hacia la cuarta o quinta década de la vida. Por su patrón de herencia mendeliano, un sujeto afectado tiene un riesgo de 50% de transmitir el padecimiento a cualquiera de sus hijos. No había sido posible identificar en la descendencia de un afectado quién había recibido el gen normal o el mutado.

Mediante pruebas de genética molecular, por primera vez en la historia de la medicina fue posible hacer el diagnóstico presintomático de una grave enfermedad genética, que se manifiesta en la edad adulta y para la cual en la actualidad infortunadamente no existe tratamiento.

La trascendencia de este hallazgo tiene, sin embargo,

evidentes repercusiones éticas, legales y sociales. Si no se mantiene la confidencialidad de esta información, son obvias las dificultades que podría tener un portador identificado del gen mutado, para conseguir un empleo, lograr un ascenso u obtener un seguro de vida.

Por otra parte, ¿quién decide a quién y cuándo someterlo a las pruebas presintomáticas? ¿Sería ético llevarlas a cabo en un niño o en un joven antes de la edad reproductiva? Es evidente que tiene que respetarse el derecho a conocer o no la situación real frente a un riesgo genético tan alto para una enfermedad que carece de tratamiento.

Además, estas pruebas, en determinadas circunstancias, como en el caso de las poblaciones migrantes, pudieran contribuir indirectamente a acentuar hostilidades de discriminación.

También corresponden a este mecanismo de amplificación de tripletas repetidas el síndrome del cromosoma X frágil, que es la causa heredada más frecuente de retardo mental en el varón, la distrofia miotónica, la atrofia muscular espino-bulbar, la enfermedad de Kennedy, algunas ataxias espinocerebelosas, la ataxia de Friedrich y la epilepsia mioclónica.

Se han localizado, asimismo, genes relacionados con un trastorno relativamente frecuente en la población general como lo es la esquizofrenia. Las principales localizaciones se muestran en el cuadro 1 (81).

Algunas localizaciones revisten notable interés ya que, por ejemplo, el complejo principal de histocompatibilidad se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y el haplotipo HLA A9 se ha encontrado asociado con la esquizofrenia de tipo paranoide (14), y la del cromosoma 22 corresponde a una localización (65) en el primer cromosoma humano secuenciado, muy próxima a la región cuya eliminación ocasiona el síndrome de Di Giorge.

Otras localizaciones son las que atan a los genes relacionados con el trastorno bipolar (cuadro 2) (54).

Como puede apreciarse, algunos genes relacionados con este padecimiento tienen mayor influencia en determinadas poblaciones.

Una de las enfermedades más dramáticas por sus manifestaciones clínicas es la enfermedad de Alzheimer o pérdida de la memoria. Cuando la enfermedad tiene componente genético se transmite con un patrón de herencia autosómico dominante y aparece significativamente más temprano que cuando la enfermedad es esporádica.

CUADRO 1. Genes relacionados con la esquizofrenia. Localización

| | |
|---------|----------|
| 1q21-22 | 8p22-21 |
| 5q21-31 | 10p15-11 |
| 6p24-22 | 13q14-32 |
| 6q15-21 | 22q11-22 |

CUADRO 2. Genes relacionados con el trastorno bipolar

| Cromosoma | Max.LOD | Relaciones |
|-----------|---------|----------------------------|
| 4p16 | 4.80 | Receptor D5 Dopamina |
| 11p5 | — | Amish-Tirosina Hidroxilasa |
| 12q 23-24 | 4.90 | Quebec-Enf.Darrier |
| 18q 22-23 | 4.06 | Costa Rica |
| 21q22 | 3.40 | Ligamento |
| Xq | — | |

Como tampoco existe actualmente tratamiento para esta entidad, el diagnóstico predictivo presintomático tiene aquí también notables repercusiones éticas, legales y sociales.

Los genes relacionados con la enfermedad de Alzheimer aparecen en el cuadro 3 (54).

También se han encontrado genes relacionados con el autismo. Los más importantes se incluyen en el cuadro 4 (8).

Otros ligamentos descritos han sido el del trastorno de ansiedad con el gen del transportador de la 5-hidroxitriptamina, localizado en 17q12; el trastorno de pánico con una duplicación de la región 15q25; y el trastorno obsesivo-compulsivo con el receptor D4 de dopamina, localizado en 11p15.

Otra esfera muy importante del comportamiento es la identidad que cada uno tiene con su propio papel sexual, ya que la diferenciación sexual constituye un paso trascendental en el proceso evolutivo al permitir una mayor variabilidad génica en las especies y, por lo mismo, una mejor adaptación al ambiente.

A pesar de que desde tiempo atrás se sabe que la determinación del sexo en los mamíferos depende del dimorfismo cromosómico XX y XY, no se ha alcanzado aún un entendimiento cabal de las complejas interrelaciones que implica el complicado proceso de la diferenciación sexual.

Con la dotación cromosómica se desencadena un proceso secuencial que implica la diferenciación progresiva de las gónadas, los genitales internos, la morfología de los genitales externos, la asignación del sexo al nacimiento, la identidad sexual psicológica, la aparición de los caracteres sexuales secundarios y el establecimiento del sexo familiar, social y legal.

En los últimos años ha habido un desarrollo impresionante en el entendimiento de los mecanismos de la diferenciación sexual en el nivel molecular. El gen fundamental para el desarrollo del testículo es el gen SRY

CUADRO 3. Genes relacionados con la enfermedad de Alzheimer

| | |
|-------------------------------------|---------|
| Proteína precursora beta-amiloide | 21q21-3 |
| Apolipoproteína E | 19q13-1 |
| Presenilina-1 | 14q24-3 |
| Presenilina-2 | 1q42-1 |
| Enzima degradadora de insulina(IDE) | 10q23 |

CUADRO 4. Genes relacionados con el autismo

| Cromosoma | Max.LOD |
|-----------|---------|
| 1p | 2.15 |
| 2q | 2.99 |
| 6q | 2.23 |
| 7q | 2.53 |
| 13q | 3.0 |

(región de la diferenciación sexual Y), localizado en el brazo corto del cromosoma Y, y muy cerca de la región pseudoautosómica.

Otros genes involucrados en este proceso pueden clasificarse, de acuerdo con su estructura y con el momento en que actúan, en tres grandes grupos: el primer grupo corresponde a factores de transcripción y participa en los procesos de diferenciación temprana. Los principales son: SF1, un receptor nuclear específico, WT1, un gen supresor tumoral que participa en el desarrollo temprano del mesonefros y se relaciona con la susceptibilidad al tumor de Wilms o nefroblastoma; Emx2, que participa en el desarrollo de la cresta urogenital; GATA4, que interactúa directamente con SRY; DMTR1, asociado con la reversión sexual XY en los casos de delección 9p.

El segundo grupo corresponde a la familia de genes SOX que participan en la determinación testicular, principalmente SOX9, localizado en 17q 24.1, y cuyo efecto es sensible a dosis, ya que haplo-insuficiencias y duplicaciones de este gen ocasionan reversión sexual acompañada de camptodactilia.

El tercer grupo de genes está constituido por genes antagonistas al desarrollo testicular pero que también participan en el desarrollo del ovario, como DAX1 y WNT4. Los dos son genes sensibles a dosis y DAX1 antagoniza la acción de SRY.

En relación con los genes que influyen en la identidad psicológica del sexo, reviste interés el trabajo realizado en familias con dos o más varones homosexuales, en los cuales se encontró un marcador en la porción distal del brazo largo del cromosoma X, compatible con un gen que segregaba con un patrón de herencia recesivo ligado a este cromosoma (21). Este hallazgo no pudo replicarse en una población canadiense con similares características.

Una característica que nos hace verdaderamente humanos es el desarrollo del lenguaje. Recientemente, al estudiar una familia en la cual el trastorno del lenguaje segregaba con un patrón de herencia autosómico dominante, se pudo establecer un ligamento con la región 7q31 (36). Estudios moleculares revelaron que el gen alterado es el gen FOX-P2, en el cual la secuenciación mostró una transición de guanina a adenina en los afectados.

CUADRO 5. Frecuencia de los alelos de la alcoholodeshidrogenasa 2 en diferentes grupos étnicos

| | <i>ALDH2¹</i> | <i>ALDH2²</i> |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Alemanes, escandinavos | 1.00 | 0.00 |
| Húngaros | 0.99 | 0.01 |
| Indos | 0.98 | 0.02 |
| Coreanos | 0.85 | 0.15 |
| Chinos | 0.84 | 0.16 |
| Japoneses | 0.76 | 0.24 |

Por otra parte, una de las adicciones más difundidas es la del alcoholismo. Es bien sabido que hay diferencias étnicas con relación con la respuesta metabólica al alcohol. En el cuadro 5 se muestra la frecuencia de los alelos de la alcoholodeshidrogenasa 2 en diferentes poblaciones (22).

Un estudio inicial en población anglosajona mostró una mayor prevalencia en los alcohólicos que en los controles del alelo A1 del receptor D2 de dopamina, localizado en 11q22-23 (5, 18). Estos hallazgos no fueron replicados en nuestra población (11).

Como se sabe, hay cepas de ratones que al ofrecerles varios líquidos prefieren ingerir alcohol, mientras que otras lo rechazan y prefieren otros líquidos. Al hacer cruzas entre estas cepas y estudiar varios cientos de animales de la generación F1, se encontraron dos genes que influyen en la preferencia al alcohol: uno que influye en las hembras y otro que lo hace en los machos (42). Como existe sintonía entre los cromosomas humanos y los del ratón, se investiga si genes que corresponden a esa localización cromosómica pueden tener alguna influencia en la adicción al alcohol en los humanos.

Pero hay algunos rasgos del comportamiento en que es más tenue la línea entre lo que se considera normal y lo que se tiene por patológico. Considérese, por ejemplo, el comportamiento temerario o la búsqueda de la novedad. Al investigar sujetos con este comportamiento, se ha encontrado un polimorfismo del receptor D4 de dopamina, localizado en 11p15, asociado con la búsqueda de la novedad (15).

Estos desarrollos no sólo permiten establecer un diagnóstico genético más adecuado y, por lo mismo, proporcionar un mejor asesoramiento genético, sino que abren prometedoras perspectivas para un tratamiento racional de los padecimientos de índole genética.

Al completarse muy recientemente la secuencia del genoma humano (25), estas posibilidades son aún mayores para las aplicaciones de la terapia génica (40) y, particularmente, para los alentadores resultados obtenidos con la manipulación de las células troncales mediante el transplante nuclear (61).

Estas células, de impresionante potencial terapéutico, pueden obtenerse de embriones, pero también de sangre del cordón umbilical o de embriones genera-

dos mediante técnicas de fertilización *in vitro* o por procedimientos de clonación.

Por supuesto, estos desarrollos tienen notables implicaciones éticas, pero recientemente el campo tomó un impulso inesperado al demostrarse que células adultas troncales pueden diferenciarse en tipos celulares no relacionados, aunque no son tan maleables como las embrionarias y tienen tendencia a alterar su número cromosómico (56). También se demostró que tales células pueden obtenerse mediante procedimientos de partenogénesis (5).

Así por ejemplo, las células troncales neuronales pueden originar células hematopoyéticas. Asimismo, las células mesenquimales troncales pueden dar lugar a células cartilaginosas, células de la médula, células grasas, células musculares, células hematopoyéticas, astrocitos. Algo aún más desconcertante es que las células troncales de médula ósea son tan versátiles que pueden originar células musculares del corazón, del músculo estriado y del músculo liso, o células hepáticas y células cerebrales (79).

Un avance significativo se obtuvo cuando Roy y colaboradores (56) aislaron células troncales neuronales, activas mitóticamente, del hipocampo de sujetos humanos adultos. Las células se identificaron adecuadamente mediante un gen portador unido a elementos regulatorios de genes expresados muy temprano en el desarrollo neuronal, como los que codifican para la nestina y la alfa-1 tubulina.

Si bien ya antes se habían encontrado células precursoras en el cerebro de animales adultos de distintas especies, como ratas (17), ratones (74), monos (34) e incluso humanos (35), éste ha sido el primer informe de extracción selectiva de células troncales neuronales del hipocampo de sujetos humanos adultos.

Como las células troncales pueden obtenerse mediante clonación, existe, sin embargo, notable confusión entre este procedimiento y la aplicación terapéutica de las células troncales que, en rigor, debiera denominarse transplante nuclear.

Recientemente Vogelstein y colaboradores (75) resumieron las diferencias fundamentales entre estos dos procedimientos, las cuales se incluyen en el cuadro 6.

No sólo resaltan las diferencias básicas en cuanto al propósito y a los requisitos de ambos procedimientos, sino, y esto es fundamental, en cuanto a sus implicaciones éticas y médicas, ya que el transplante nuclear concierne al tratamiento de enfermedades específicas, mientras que la clonación duplica seres humanos, lo que tiene notables implicaciones éticas, legales y sociales, así como muchas reservas en relación con la seguridad y eficiencia del procedimiento.

Las aplicaciones terapéuticas del transplante nuclear, o sea, del empleo de las células troncales, cubren un

CUADRO 6. Diferencias fundamentales entre el transplante nuclear y la clonación reproductiva

| | <i>Transplante nuclear</i> | <i>Clonación reproductiva</i> |
|--------------------------------------|--|----------------------------------|
| Producto final | Células que crecen en medio de cultivo | Un ser humano |
| Propósito | Tratar enfermedades específicas | Duplicar seres humanos |
| Tiempo | Pocas semanas | Nueve meses |
| Madre subrogada | No | Sí |
| Creación de un ser humano consciente | No | Sí |
| Implicaciones éticas | Similares a investigación con células embrionarias | Temas muy complejos |
| Implicaciones médicas | Similares a terapias celulares | Reservas de seguridad y eficacia |

muy amplio espectro que va desde las enfermedades genéticamente determinadas hasta las lesiones secundarias a traumatismos. Algunas de estas entidades son devastadoras por sus graves manifestaciones clínicas y muchas son, infortunadamente, muy frecuentes en la población general. Las más importantes aplicaciones clínicas se incluyen en el cuadro 7, donde se refieren los distintos tipos de células utilizadas y la patología para la cual se aplican.

En relación con la enfermedad de Parkinson se ha demostrado mediante la utilización de células troncales embrionarias o adultas la producción de dopamina *in vitro* e *in vivo* (37). Asimismo la utilización de estas células permite avizorar el reemplazo de las neuronas dañadas en la enfermedad de Alzheimer (68), mientras que en la esclerosis múltiple la aplicación del interferón beta puede modificar el curso del padecimiento. No existe, sin embargo, un tratamiento curativo para esta última enfermedad y el empleo de las células troncales abre la posibilidad de reemplazar las placas perivasculares de desmielinización (82).

Hasta hace no mucho tiempo se suponía que las lesiones medulares eran incurables. Ahora la terapia génica y el empleo de las células troncales abren nuevas esperanzas en este campo (47). De manera similar, como la isquemia implica la necrosis del músculo cardíaco,

CUADRO 7. Aplicaciones terapéuticas de las células troncales

| <i>Tipo de células</i> | <i>Patología</i> |
|------------------------|---|
| Nerviosa | Parkinson Alzheimer Enfermedad cerebral vascular Lesiones medulares Esclerosis múltiple |
| Músculo cardíaco | Cardiopatía isquémica Insuficiencia cardíaca |
| Células beta | Diabetes mellitus |
| Sanguíneas | Leucemias Inmunodeficiencias Sida |
| Hepáticas | Hepatitis Cirrosis |
| Músculo esquelético | Distrofias musculares |
| Oseas | Osteoporosis |
| Diversos | Neoplasias Quemaduras Traumatismos |

en este estado la utilización de las células troncales resulta muy promisoria (29).

La diabetes tipo 2, o diabetes no insulino dependiente, es un padecimiento poligénico que se presenta con una frecuencia cercana a 5% de la población adulta. Es más común en algunas poblaciones, como las de Micronesia o la de los grupos Pima de Arizona, donde su frecuencia es mayor a 30%. Las drogas existentes, las dietas rigurosas y el ejercicio no siempre son exitosos para prevenir las graves complicaciones, especialmente oculares, renales y cardiovasculares, por lo que en esta entidad resulta de gran importancia el desarrollo de nuevos procedimientos terapéuticos.

En este sentido, resulta muy alentador el reciente trabajo de Assady y colaboradores (2), quienes demostraron la producción de insulina por células troncales embrionarias humanas. Los autores emplearon estas células en condiciones de cultivo tanto en capa adherente como en suspensión. En ambas condiciones observaron una diferenciación espontánea que generó células beta productoras de insulina.

La presencia de insulina se demostró por técnicas de inmunohistoquímica y mediante metodologías de genética molecular (RT-PCR), que evidenciaron la presencia de mRNA correspondiente a insulina en las células troncales después de 20 días de iniciada la diferenciación. De igual manera, se comprobó la presencia de otros dos marcadores específicos de las células beta de los islotes de Langerhans: una glucoquinasa específica y el marcador GLUT2, lo que confirma plenamente la diferenciación de células beta. Estos avances constituyen un paso sustancial en el empleo de las células troncales como terapia de reemplazo en la diabetes.

Un reciente avance que abre espectaculares perspectivas es el de Cibelli y colaboradores (5), quienes obtuvieron células troncales por partenogénesis. La partenogénesis es un proceso por el cual un huevo no fecundado por esperma puede generar un embrión. Los autores obtuvieron células troncales por partenogénesis en primates no humanos y demostraron claramente en las neuronas producción de dopamina y de serotonina y lograron, además, diferenciación de intestino, hueso, folículos pilosos y glándulas sebáceas.

Aunque el trabajo no parece muy convincente y ha despertado una gran polémica, este grupo de investi-

gadores (6) ha buscado producir el primer embrión humano clonado. Más recientemente, un grupo coreano (33) ha clamado la obtención de células troncales de un ratón partenogenético que pudo llegar a la edad adulta.

También recientemente ha surgido un nuevo y promisorio horizonte en el empleo de las células troncales: combinar estos procedimientos con la terapia génica. Rideout y colaboradores (55) han informado sobre la corrección de la inmunodeficiencia grave combinada, un defecto genético en ratones mutantes, mediante una estrategia que conjuga el transplante nuclear con la terapia génica.

El procedimiento incluye transferencia de núcleos de células somáticas a oocitos enucleados, activación y cultivo de los embriones así obtenidos hasta el estado de blastocistos, aislamiento y cultivo de células troncales de estos blastocistos, reparación del defecto genético mediante recombinación homóloga, diferenciación de las células troncales reparadas *in vivo*, por complementación de embriones tetraploides o por diferenciación *in vitro* en células troncales hematopoyéticas y, finalmente, trasplante de las células troncales hematopoyéticas a los ratones donadores afectados.

Se trata de un logro revolucionario que debe alentar el campo de la investigación en células troncales y su proyección en la clínica, pues ofrece una herramienta terapéutica para las devastadoras enfermedades en el humano que actualmente no tienen tratamiento. No es posible postergar por más tiempo la autorización para la clonación terapéutica. En este sentido es alentador el ejemplo de varios países, principalmente el Reino Unido que fue pionero en estos avances, que ya han otorgado autorización para desarrollar y aplicar estas promisorias terapias en seres humanos.

Por lo tratado previamente, podría suponerse que la visión del genetista es totalmente reduccionista. Nada más alejado de la realidad. Si bien la constitución genética es importante, el fenotipo resulta de una compleja, sutil y permanente interacción con los factores de índole ambiental. El gen no es necesariamente destino.

Dos ejemplos ilustran muy bien esta situación: es bien conocido que existen genes de susceptibilidad a cáncer de mama y cáncer de ovario. Dos de estos genes que explican buena parte de estas neoplasias de tipo familiar son, por sus siglas en inglés, BRCA1 y BRCA2. Recientemente, King y colaboradores (32), al estudiar a 1008 mujeres judías de origen Ashkenazi, en quienes son más frecuentes estas neoplasias familiares con mutaciones en estos genes supresores tumorales, encontraron que el riesgo para cáncer de mama en las portadoras de mutaciones, a la edad de 50 años, era de 24% para las mujeres nacidas antes de 1940, pero

era de 67% para las nacidas después de 1940. Es evidente que a pesar de la predisposición genética hay factores ambientales, como la dieta, el peso, el ejercicio, los anticonceptivos, la edad de la menarquia, la paridad y la exposición a agentes tóxicos, que modifican notablemente la aparición de la neoplasia.

El otro ejemplo se relaciona con la enfermedad de Alzheimer. Ya se han mencionado los genes relacionados con este padecimiento (cuadro 3). Sin embargo, cada día cobran mayor relevancia para la reducción del riesgo el estímulo cognoscitivo, el ejercicio, la restricción dietética, las drogas que reducen la colesterolemia como las estatinas, algunos agentes quelantes, sustancias antiinflamatorias y antioxidantes, el ácido fólico, las vitaminas del complejo B, la inmunización contra el péptido beta-amiloide, inhibidores de la gama-secretasa, factores neurotróficos, agentes colinérgicos, antidepresivos (41).

Si la primera mitad del siglo pasado correspondió a la Física, la segunda fue decisiva para la Genética y esta centuria será de la Genómica, de la Proteómica, del transcriptoma y de la metabolómica. Nuestra población no puede quedar marginada de los beneficios que se derivan de tales desarrollos. Para quienes estamos comprometidos con que se tornen en una realidad concreta en nuestro medio, nos alienta el pensamiento de Gerald Holton (24) en su libro *La imaginación científica*: "Así como una sociedad no puede hacer lo que sus miembros no pueden soñar, tampoco puede dejar de hacer aquello que es parte de sus sueños".

REFERENCIAS

1. ARBER W: DNA modification and restriction. *Prog Nucl Acid Res Mol Biol*, 14:1-18, 1974
2. ASSADY S, MAOR G, AMIT M, ITSKOVITZ E, SKORECKI K: Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes*, 50:1691-1697, 2001.
3. AVERY OT, MAC LEOD CM, McCARTY M: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *J Exp Med*, 98:451-460, 1944.
4. BALL P: Paper trail reveals references go unread by citing authors. *Nature*, 420:594, 2002.
5. BLUMK, NOBLE E, SHERIDAN P, MONTGOMERY A, RITCHIET: Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA*, 263:2055-2060, 1990.
6. CIBELLI JB: The first human cloned embryo. *Sci Amer*, 286:42-49, 2002.
7. CLEAVER JE: Defective repair replication of DNA in Xeroderma pigmentosum. *Nature*, 218:652-656, 1968.
8. COLLABORATIVE LINKAGE STUDY OF AUTISM: An autosomal screen for autism. *Am J Med Genet (Neuropsychiatric Genetics)*, 88:609-615, 1999.
9. CRICK F: The double helix: a personal view. *Nature*, 248:766-769, 1974.
10. CRICK F, KOCH C: A framework for consciousness. *Nature Neurosci*, 6:119-126, 2003.
11. CRUZ C, CAMARENA B, MEJIA JM, PAEZ F, EROZA V: The dopamine D2 receptor gene taq I A1 polymorphism and

- alcoholism in a Mexican population. *Arch Med Res*, 26:421-426, 1995.
12. DE LA FUENTE R: Raúl Hernández Peón. In memoriam. *Gac Med Mex*, 98:1082-1084, 1968.
 13. DONIS-KELLER H: *Human Gene Mapping Techniques: A Laboratory Manual*. Stockton Press, Nueva York, 1991.
 14. EBERHARD G, FRANZENG, LOW B: Schizophrenia susceptibility and A2A antigens. *Neuropsychobiol*, 1:211-222, 1975.
 15. EBSTEIN RP, NOVICK O, UMANSUY R, PRIEL B, OSHER Y: Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of novelty seeking. *Nature Genet*, 12:78-80, 1995.
 16. FRANKLIN RE, GOSLIN RG: Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature*, 171:740-741, 1953.
 17. GOUL DE: Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J Neurosci*, 12:3642-3650, 1992.
 18. GRANDY D, LITT M, ALLEN M, BUNZOW J, MARCHIONI M: The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-23 and identifies a taq I RFLP. *Am J Hum Genet*, 45:778-785, 1989.
 19. GRIFFITH F: The significance of pneumococcal types. *J Hyg*, 27:113-159, 1928.
 20. HALES T: *Ann Math* (Aún en revisión)
 21. HAMER HD, HUS, MAGNUSON VL, HUN, PATTATUCHI AML: A linkage between DNA markers on the X chromosome and male sexual orientation. *Science*, 261:321-327, 1993.
 22. HODGKINSON S, MULLAN M, MURRAY RM: The genetics of vulnerability to alcoholism. En: McGuffin P, Murray R (eds.) *The New Genetics of Mental Illness*. Mental Healthy Foundation, 182:197, Londres, 1991.
 23. HOLMES FL: Meselson Stahl and the Replication of DNA: *A History of the Most Beautiful Experiment in Biology*. Harvard University Press, Boston, 2003.
 24. HOLTON G: *La Imaginación Científica*. Fondo de Cultura Económica, México, 1989.
 25. INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM: Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 431:931-945, 2004.
 26. JACOB F, MONOD J: Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J Mol Biol*, 3:318-324, 1961.
 27. JOHANNSEN WL: *Arveligheds Laerens Elementer*. Copenhagen, 1905.
 28. JUDSON HF: *The Eighth Day of Creation. The Markers of the Revolution in Biology*. Simon and Schuster, Nueva York, 1979.
 29. KEHAT I: Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest*, 108:407-414, 2001.
 30. KENDLER KS, GRUENBERG AM, STAUSS JS: An independent analysis of the Copenhagen sample of the Danish adoption study of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 38:973-993, 1981.
 31. KETY SS, ROSENTHAL D, WENGER PH: The type and prevalence of mental illness in the biological and adoptive families of adopted schizophrenics. En: Rosenthal D, Kety SS (eds.) *The Transmission of Schizophrenia*. Pergamon Press, 89, Oxford, 1968.
 32. KING MC, MARKS JH, MANDELL JB: Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science*, 302:643-646, 2003.
 33. KONO T, OBATA Y, WUQ, NIWAK, ONO Y: Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. *Nature*, 428:860-864, 2004.
 34. KORNACK D, RAKIC P: Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96:5768-5773, 1999.
 35. KUKELOV V: Multipotent stem/progenitor cells with similar properties obtained from two neurogenic regions of adult human brain. *Exp Neurol*, 156:333-334, 1999.
 36. LAI CSG, FISHER SE, HURST JA, YARGA K, HADEM F, MONACO AP: A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder. *Nature*, 413:519-523, 2001.
 37. LEE SH: Efficient generation of mid brain neurons from mouse embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 18:675-679, 2000.
 38. LEJEUNE J: Le mongolisme. Premier exemple d'aberration autosomique humaine. *Ann Genet Semaine Hop*, 1:41-52, 1959.
 39. LENGAUERC, SPEICHER MR, POPPS: Chromosomal bar codes produced by multicolor fluorescence in situ hybridization with multiple YAC clones and whole chromosome painting probes. *Hum Mol Genet*, 2:505-512, 1993.
 40. MARSHALL E: Gene therapy's growing pains. *Science*, 269:1050-1055, 1995.
 41. MATTSON MP: Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430:631-639, 2004.
 42. MELO JA, SHENDURE J, POCIAS K, SILVER LM: Identification of sex-specific quantitative trait locus controlling alcohol preference in C57BL/6 mice. *Nature Genet*, 13:147-153, 1996.
 43. MESELSON M, STAHL FW: The replication of DNA in Escherichia coli. *Proc Natl Acad Sci USA*, 44:671-682, 1958.
 44. MORGAN TH: Sex limited inheritance in Drosophila. *Science*, 32:120-122, 1910.
 45. MULLIS KB: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*, 155:335-350, 1987.
 46. MURRAY A, SZOSTAK JW: Construction of artificial chromosomes in yeast. *Nature*, 305:189-193, 1983.
 47. MURRAY M, FISHER I: Transplantation and gene therapy. Combined approaches for repair of spinal cord injury. *Neuroscientist*, 7:28-41, 2001.
 48. NATHANS D, SMITH HO: Restriction endonucleases in the analysis and restructuring of DNA molecules. *Ann Rev Biochem*, 44:273-287, 1975.
 49. NATURE (Suplemento especial): The double helix. 50 years. 421:395-453, 2003.
 50. NIRENBERG W, MATTHAEIJH: The dependence of cell-free protein synthesis in E. coli upon naturally occurring or synthetic polynucleotides. *Proc Natl Acad Sci USA*, 47:1558-1602, 1961.
 51. OLBY R: Quiet debut for the double helix. *Nature*, 421:402-405, 2003.
 52. PAULING L: *The Nature of Chemical Bond*. Cornell University Press, Nueva York, 1960.
 53. PAULING L, IMO HA, SINGER SJ, WELLS IC: Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science*, 110:543-546, 1949.
 54. PLOMIN R, DEFRIES JC, McCLEARN GE, McGUFFIN P: *Behavioral Genetics*. Worth Publishers, Nueva York, 2001.
 55. RIDEOUT WM, HOCHEDLINGER K, KYBAM, DALEY GQ, JAENISCH R: Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell*, 109:17-27, 2002.
 56. ROY NS: In vitro neurogenesis by progenitor cells isolated from the adult human hippocampus. *Nature Med*, 6:271-277, 2000.
 57. SALAMANCA F: Gregor Mendel. *El Olvidado Monje del Huerto*. CONACYT, México, 1986.
 58. SALAMANCAF: *Citogenética Humana. Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. Editorial Médica Latinoamericana, México, 1990.
 59. SALAMANCA F: Keeping Mendel in mind. *Nature*, 412:118, 2001.
 60. SALAMANCA F: Nature, 25 de abril de 1953. *Gac Med Mex*, 140:246-250, 2004.
 61. SALAMANCA F: La aplicación clínica de las células troncales (transplante nuclear). En: Cano-Valle F (ed.) *Clonación en Humanos*. UNAM, 73-86, México, 2003.

62. SALAMANCA-BUENTELLO F, PERSAD DD, COURT E, MARTIN D, DAAR A, SINGER P: Nanotechnology and the Developing Words. PLOS MEDICINE, 2005 (En prensa).
63. SALAMANCA-BUENTELLO F, SALAMANCA-GOMEZ F: Clinical research, genomic medicine, and scientific evaluation. BMJ, 2005 (En prensa).
64. SARAMAGO J: *El Hombre Duplicado*. Alfaguara, México, 2003.
65. SHIZOPHRENIA COLLABORATIVE LINKAGE GROUP (Chromosome 22): A combined analysis of D22S278 marker alleles in affected sib-pairs: support for a susceptibility focus for schizophrenia at chromosome 22q12. *Am J Med Genet*, 67:40-45, 1996.
66. SCHRODINGER E: *What is Life?* Cambridge University Press, Nueva York, 1944.
67. SCIENCE: Genes and Behaviour. 267:1637-1816, 1994.
68. SHAMBLOT MJ: Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Nat Acad Sci USA*, 95:13726-13731, 1998.
69. SHERWOOD P: DNA from Alberts to Zinder. *Nature*, 422:806-807, 2003.
70. STRASSER BJ: Who cares about the double helix? *Nature*, 422:803-804, 2003.
71. SUTTON WS: The chromosomes in heredity. *Biol Bull*, 4:231-251, 1903.
72. THE HUNTINGTON'S DISEASE COLLABORATIVE RESEARCH GROUP: A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and uns table on Huntington disease chromosome. *Cell*, 72:971-983, 1993.
73. TJIO JH, LEVAN A: The chromosome number of man. *Hereditas*, 42:1-6, 1956.
74. VAN PRAAG H: Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscis*, 266-270, 1999.
75. VOGELSTAIN B, ALBERTS B, SHINE K: Please dont call it cloning! *Science*, 295:1237, 2002.
76. WATSON JD: *The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*. Atheneum, Nueva York, 1968.
77. WATSON JD: DNA. *The Secret of Life*. William Heinemann, Londres, 2003.
78. WATSON JD, CRICK FHC: Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 171:737-738, 1953.
79. WATT FM, HEGAN BLM: Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*, 287:1427-1430, 2000.
80. WILKINS MU, STOKES AR, WILSON HR: Molecular structure of deoxy pentose nucleic acids. *Nature*, 171:738-740, 1953.
81. WILLIAMS NM, REES MI, HOLMANS P, NORTON N, CARDNO AG: A two stage genome scan of schizophrenia susceptibility genes in 196 affected sibling pairs. *Hum Mol Genet*, 8:1729-1740, 1999.
82. ZHANG SC: In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 19:1129-1133, 2001.