

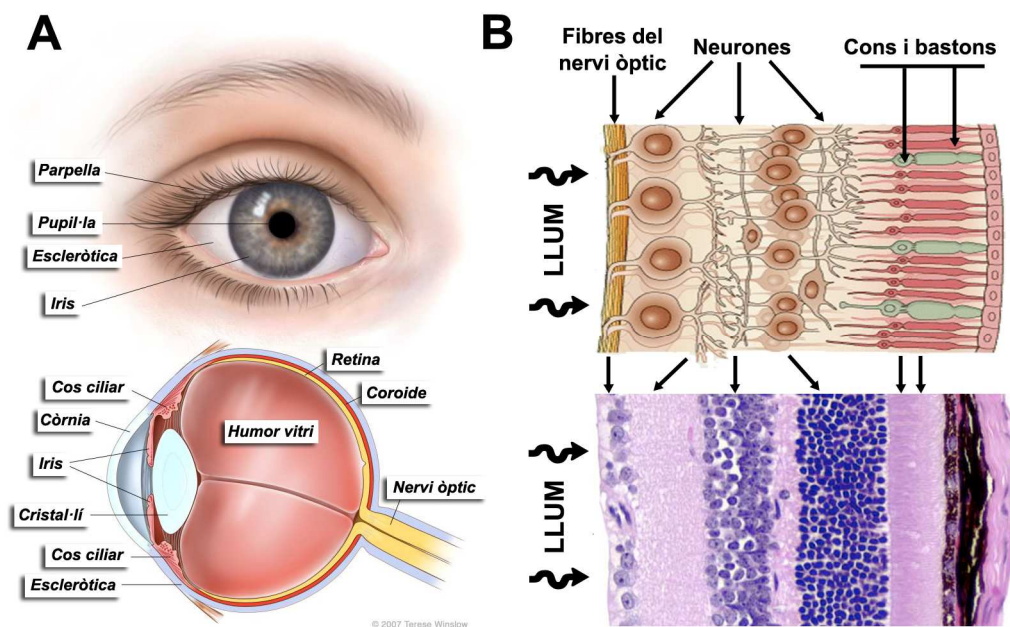
## Esperança dissenyada al laboratori

Amanda Denuc

**–Noves tecnologies desenvolupades al departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la UB obren la porta a un diagnòstic més acurat de la retinosi pigmentària–**

Si imaginem l'ésser humà en un entorn salvatge i primitiu, entendrem que la vista és un sentit essencial per a la supervivència: cal evitar els depredadors, cal detectar les preses, cal establir contacte amb els congèneres, etc. Ho deixa de ser en un entorn social i civilitzat? Seguint l'últim informe de la OMS, publicat l'octubre del 2011 (*WHO, Fact sheet 282*), el 90% de les persones amb deficiències visuals viuen en països desenvolupats. Globalment, la xifra és de 285 milions d'afectats, dels quals 39 milions són cecs.

Així, la ceguesa representa un 14% de les afectacions visuals i, tot i que es pot afirmar que actualment a la nostra societat no posa en perill la supervivència d'un individu, sí limita considerablement l'autosuficiència i llibertat personal d'aquells que la pateixen. L'ull és un òrgan complex, que consta de diferents estructures, cadascuna amb una funció única. A través d'una obertura de tan sols 2 mm de diàmetre, l'ull selecciona una petita fracció del que hi ha al nostre voltant i, amb el cervell, reconstrueix la posició, la forma, el color, i el moviment de cada objecte en el nostre camp visual. Les malalties que porten a desenvolupar ceguesa es classifiquen en quatre grups, depenent de l'estructura anatòmica que es veu malmesa (*Figura 1A*): (1) les que afecten a les estructures transparents de l'ull, com per exemple les cataractes;



*Figura 1. A) Estructura anatòmica de l'ull. B) Estructura cel·lular de la retina (a dalt, diagrama, a baix, tall transversal de retina tractada experimentalment, delimitant seccions).*

(2) les que afecten al nervi òptic, com per exemple el glaucoma; (3) les que afecten al cervell, com per exemple la ceguera cortical; i, per últim, (4) les que afecten a la retina, com per exemple la retinosi pigmentària.

Estudiar-ne les bases moleculars, és a dir, la diana –la molècula– que es veu directament afectada en aquestes malalties, i que per tant és l'origen, és el primer pas per trobar-ne una cura. És en aquest context on s'emmarca la feina que es duu a terme al laboratori molecular del departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona. El grup de la Dra Roser González treballa des de fa més de 20 anys en l'estudi de les bases genètiques de la retinosi pigmentària (RP) i altres distròfies de retina, la causa principal de ceguera hereditària en adults.

## La retina i les retinopaties

Detalladament, la retina és l'estructura posterior de l'ull que converteix les senyals lluminoses en senyals nervioses, les quals són interpretades pel cervell i generen la visió tal i com l'entendem. Aquesta habilitat neix del fet que es tracta d'un teixit sensitiu, format per diferents unitats sensorials, diferents cèl·lules fotoreceptores –anomenades cons i bastons– capaces de captar la llum que reben i de transformar els estímuls lluminosos en impulsos nerviosos. En la RP, i en altres distròfies degeneratives, són aquestes cèl·lules la diana de la malaltia i, a poc a poc, van degenerant i deixant el teixit sense funció (*Figura 1B*).

El que sí es coneix és que aquesta degeneració no és provocada per lesions, infeccions o qualsevol altre agent extern, sinó que es tracta de malalties amb un origen genètic, un error en un gen. Els gens són paquets informatius que contenen dues còpies de dades –una procedent del pare i l'altre de la mare– que defineixen i caracteritzen tots els trets del nostre cos. En aquest cas, la malaltia comporta que la informació continguda en un gen –que té les dades per un tret de la retina– sigui errònia, que hi hagi un defecte genètic –anomenat mutació–, el qual fa que les cèl·lules funcionin de manera incorrecte i tinguin dificultats per percebre la llum. Aquests defectes, pel seu caràcter genètic, són heretables, és a dir, que es transmeten a la descendència, i en conseqüència, els fills són susceptibles de patir la mateixa malaltia.

Ara bé, l'herència dels caràcters, en aquests cas de les mutacions que provoquen la malaltia, segueix un patró concret que es coneix com a patró d'herència mendelià –dit així perquè segueix les anomenades lleis de Mendel. Això significa que depenent del tipus d'herència de la malaltia poden donar-se tres situacions: (1) estar afectat de la malaltia, (2) portar una de les còpies amb una mutació, procedent d'un dels pares, però això no ser prou com per desenvolupar la malaltia –s'anomenen individus portadors sans– o (3) estar completament sa. I quins són els tipus d'herència? (*Figura 2*)

1. Retinosi pigmentària d'herència autosòmica dominant (adRP, *autosomal dominant RP*): “autosòmic” vol dir que és independent del sexe de l'individu, i “dominant”, que només amb la presència de la mutació en una de les dues còpies que s'hereten, tant la de la mare o la del pare, ja és suficient per desenvolupar la malaltia. En aquest cas, el 50% dels fills es veuran afectats, tot i que, en retinosi, aquesta és la forma més lleu, ja que la

malaltia progressa lentament i, generalment, es conserva una bona visió central fins edat avançada.

- II. Retinosi pigmentària d'herència autosòmica recessiva (arRP, *autosomal recessive RP*): en aquest cas, sent també independent del sexe de l'individu, perquè es desenvolupi la malaltia és necessari que les dues còpies de la informació codificada en el gen, la de la mare i la del pare, presentin una mutació. En aquest cas, el 25% dels fills es veuen afectats i un 50% són portadors d'una còpia mutada, que al seu torn poden transmetre també als seus fills, malgrat ells no manifestin la malaltia. Malauradament, en retinosi és més greu que l'anterior cas i es pot presentar amb problemes d'adaptació a la foscor ja en l'adolescència. És el patró més freqüent i es correlaciona en alguns casos amb consanguinitat –quan els pares presenten un grau de parentiu comú, atès que la probabilitat que es reuneixin en una mateixa persona dues còpies mutades del gen és molt més elevada.

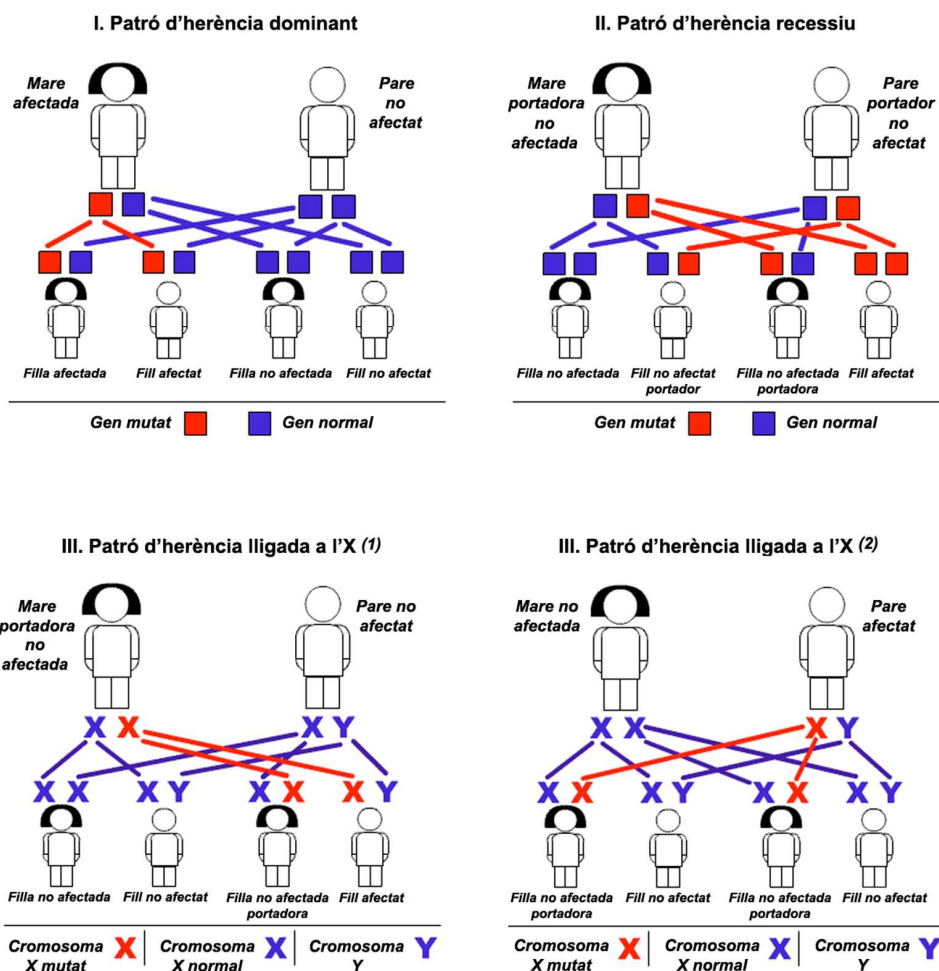


Figura 2. Quadre de patrons d'herència. Veure text (Modificat de [www.distrofia-mexico.org](http://www.distrofia-mexico.org) Article: Ricardo Rojas).

- III. Retinosi pigmentària d'herència lligada al cromosoma X: en aquest cas, el gen afectat es localitza en la mateixa ubicació que defineix el sexe femení –el cromosoma X–, la qual

cosa implica que la probabilitat de desenvolupar o no la malaltia depengui del fet de ser home o dona. Si la mutació prové de la mare, el 50% dels fills seran malalts i el 50% de les filles portadores. Si la mutació prové del pare, el 100% dels fills serà sa i el 100% de les filles portadores. És la forma de retinosi més severa i progressiva.

El més destacat és que, tot i tractar-se d'una malaltia monogènica, és a dir, que l'afectació d'un sol gen ja és suficient per desenvolupar-la, hi ha diversos gens que poden ser-ne els responsables de manera individual. A més, en un únic gen poden aparèixer diferents defectes, diferents mutacions, que porten a desenvolupar retinosi pigmentària. Tècnicament parlant, es diu que no hi ha gens causals majoritaris ni mutacions prevalents. Fins ara es coneixen uns 150 gens per distrofies retinianes ([www.sph.uth.tmc.edu/Retnet/](http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet/)), i cal tenir en compte que en un 40-50% dels casos d'RP, els gens afectats són encara desconeguts.

Aquesta variabilitat té una conseqüència evident: la dificultat del diagnòstic genètic i la manca d'informació per al desenvolupament de fàrmacs i teràpies. I és en aquest punt on trobem la feina que s'ha desenvolupat en el grup d'investigació de la Dra. Roser González: el disseny d'una eina que permet refinar el diagnòstic i la identificació de nous gens i de noves mutacions.

## Xips de diagnòstic

Les persones que pateixen RP –una de cada 3700– desenvolupen una degeneració progressiva i irreversible de la retina que comporta, en una primera fase, una disminució de la visió de nit o amb poca claror –nictalopia–, seguida per una pèrdua de la visió del camp perifèric –visió en túnel– i, finalment, ceguesa. A més a més, en un 30% dels casos, la retinosi pigmentària està relacionada amb lesions en altres òrgans, i engloba fins una trentena de síndromes que es coneixen amb el nom de retinosis pigmentàries sindròmiques.

Tot i que es neix amb la malaltia, és estrany que es manifesti abans de l'adolescència. Per tant, la persona afectada no és conscient fins que la malaltia es troba en fases avançades. El problema comença quan, després d'una mitjana de 7 visites a diferents oftalmòlegs per aconseguir un diagnòstic clínic adient, el pacient ha d'assumir que té una malaltia incurable que pot produir ceguesa i, a més a més, que pot ser que altres membres de la seva mateixa família o de la seva descendència també estiguin afectats. En aquest moment es requereix un diagnòstic genètic, que analitzi la informació heretada dels progenitors per cada individu, i així poder identificar els membres de la família afectats, portadors i sans.

En el laboratori de Genètica Molecular de la UB, liderat per la Dra Roser González, hi treballen tres investigadores i dues tècnics especialitzades (*veure secció d'entrevistes*) que s'encarreguen del diagnòstic genètic de diferents famílies que pateixen distròfies de retina. Les famílies hi acudeixen des d'associacions d'afectats, com l'ONCE, per col·laboracions amb centres oftalmològics com l'IMO –Institut de Microcirurgia Ocular– o per iniciativa pròpia, a través de la pàgina web d'OrigoGEN (*Quadre 1*). Actualment, el diagnòstic genètic requereix l'anàlisi completa dels 150 gens coneguts i, com s'ha dit, cal tenir en compte que en un 40-50% dels casos no es trobarà ni el gen ni la mutació que sigui la causa de la malaltia. En aquests casos caldrà iniciar una cerca exhaustiva i manual de l'origen de la retinosi pigmentària.

Aquesta anàlisi comporta una gran despesa de temps i diners, i fa l'estudi inviable a nivell particular. Una de les aportacions d'aquest grup de recerca en el diagnòstic de la malaltia és el disseny d'un xip automatitzat, que s'actualitza contínuament, i que serveix per l'estudi de casos familiars concrets.

Esther Pomares, investigadora postdoctoral del laboratori, és la responsable del disseny i la posada a punt d'un sistema que es basa en l'estudi detallat del material genètic de l'individu d'interès mitjançant un xip d'SNPs. Per entendre com funciona aquest xip, cal saber que les dades que contenen els gens i defineixen els trets d'un individu es troben codificades en una seqüència ordenada de tan sols

4 lletres, anomenades nucleòtids. És la seqüència d'ADN –àcid desoxiribonucleic. A nivell poblacional aquesta seqüència pot presentar variacions, que no es consideren mutacions per la seva elevada freqüència. El 90% de totes les variacions presents al conjunt de gens d'un individu afecten a una sola posició d'aquesta seqüència de lletres, un sol nucleòtid i s'anomenen científicament: polimorfismes d'un sol nucleòtid o SNPs, de l'anglès *single nucleotide polymorphism*. El disseny d'aquest xip automatitzat es basa conceptualment en un diagnòstic indirecte, assumint que tots els individus afectats d'una mateixa família han heretat una seqüència d'infor-

mació comuna, diferent dels individus sans, que inclou la mutació causal i alhora SNPs característics per cada gen que es vol estudiar.

Així, per cada mostra es fa una anàlisi dels SNP de cada gen, detallant el valor de cada nucleòtid per cada posició a la seqüència d'ADN. Amb aquests valors es fa un estudi, de manera que, per a cada individu, es poden incloure o descartar els gens analitzats al xip. Aquells gens que no es poden descartar s'analitzen de manera manual, seqüenciant tot el material genètic i buscant noves mutacions que puguin explicar la malaltia.

El procés de diagnòstic que es duu a terme al laboratori de Genètica comença quan l'oftalmòleg diagnostica la malaltia i extrau una mostra de sang o saliva del pacient. A partir de

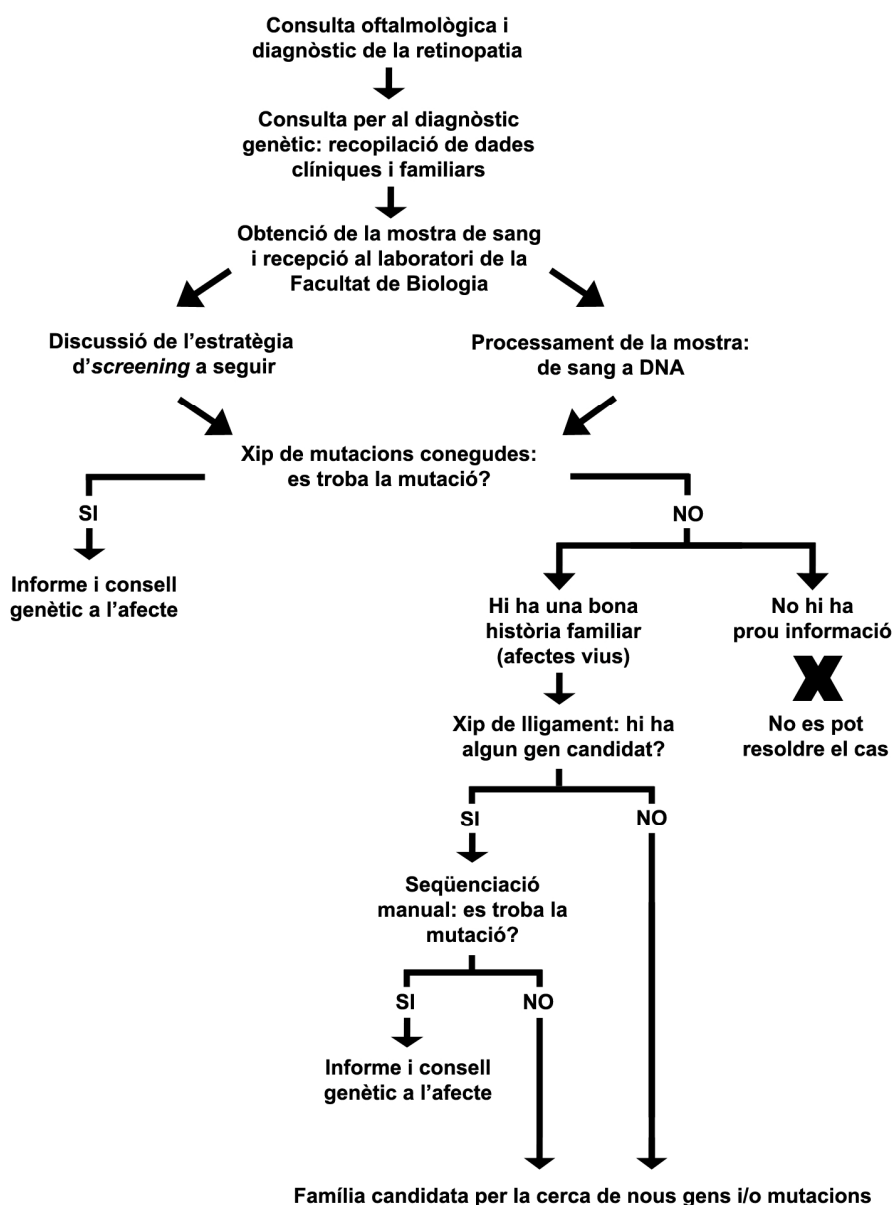
### ORIGOGEN

([www.origogen.com](http://www.origogen.com))



*És el portal que actualment dona a conèixer un servei de la Universitat de Barcelona, fundat al 2008 per les doctores Esther Pomares, Gemma Marfany i Roser González, amb l'arribada de la patent del xip d'SNP desenvolupat al Departament de Genètica. "Actualment no hi podem dedicar tots els esforços que serien necessaris per parlar d'empresa, però tots els casos que arriben es diagnostiquen" declara Esther Pomares. Quan en una família apareix un afectat, sorgeixen molts dubtes a la resta de membres, referent a la seva pròpia afectació o la probabilitat de transmetre-ho a la descendència. El diagnòstic és una realitat i pot predir la progressió de la malaltia o discernir quin serà el millor tractament a seguir. Sempre complementant el diagnòstic clínic, OrigoGEN permet a qualsevol persona interessada a accedir d'una manera directa a la professionalitat, experiència i coneixement del grup de recerca dirigit per la Dra Roser González.*

la sang es fa una extracció d'ADN i les mostres s'analitzen en xips comercials de mutacions conegudes, que només cobreixen amb èxit un 35-45% dels casos. Si amb aquest primer pas no s'identifica la causa de la retinosi pigmentària, és a dir, en el 55-65% restant, les mostres es passen pel xip d'SNPs dissenyat a la UB. Amb aquest segon pas es descarten, amb una eficiència del 85%, els gens coneguts no responsables de la retinosi en aquesta família, de manera que es pot començar una anàlisi manual en el 15% dels gens si inclosos al xip per trobar la mutació. En l'últim supòsit que tots els gens estudiats fossin descartats, la família és una bona eina de treball per començar un projecte descriptiu de cerca de nous gens causals de



retinosi pigmentària (Figura 3).

## Apunts finals

Es calcula que a Espanya hi ha 15.000 afectats, però que més de 500.000 persones són portadores de gens amb mutacions que causen retinosi pigmentària i altres distrofies retinianes. Actualment es tracta de malalties que no tenen cura ni tractament, però s'estan desenvolupant teràpies gèniques que, en un principi, seran vàlides per uns determinats grups de gens, fins a incorporar tots els possibles. Conèixer quin és el gen responsable de la malaltia en les famílies d'afectats serà, i de fet ja és, un punt clau per oferir opcions. D'una banda per saber si podran accedir als nous tractaments, i de l'altra, per oferir un diagnòstic prenatal a aquells afectats que vulguin tenir fills. I tot això serà possible si es desenvolupen eines de diagnòstic flexibles, que facilitin la identificació de noves mutacions en gens coneguts, així com també la possibilitat de trobar noves famílies per l'estudi i caracterització de nous gens.

## Entrevistes

*El grup de Retinosi Pigmentària dirigit per la Dra Roser Gonzàlez es va iniciar al Departament de Genètica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona al 1990. Des de llavors s'han llegit fins a vint-i-dues tesis i, a més a més, són molts els estudiants, tècnics i col·laboradors que hi han passat fins avui. Actualment està format per les tècnics Sheila Ruiz i Pilar Méndez, les doctorandes Marta de Castro i Marina Riera, i les doctores Esther Pomares i Roser Gonzàlez. El grup compta amb un currículum de 60-70 publicacions i de l'ordre de 35-40 projectes concedits. La seva activitat científica les porta a col·laborar amb el grup de neurobiologia del Dr. Anand Swaroop, al NIH de Bethesda, EEUU, per la identificació de nous gens causants de distròfies de retina; i el grup de models transgènics murins de la Dra Muna Naash, al OUHSC d'Oklahoma, EEUU, per obtenir més detalls funcionals en l'estudi del gen CERKL, causant de retinosi pigmentària.*



*D'esquerra a dreta: Marta de Castro, Sheila Ruiz, Roser Gonzàlez, Esther Pomares, Pilar Méndez i Marina Riera.*

### Pilar Méndez, tècnic del grup des de 2007

**Amanda Denuc:** Per què vas triar aquest grup i quan vas començar?

**Pilar Méndez:** Des de sempre la genètica m'ha interessat i quan vaig acabar la meva formació vaig demanar de fer pràctiques específicament en aquesta àrea. Vaig estar uns mesos de suplent, tant al Departament de Citogenètica per al diagnòstic prenatal de l'IBC (Institut de Bioquímica Clínica), com a la Unitat d'Urgències de l'Hospital Casa Maternitat-Hospital Clínic. Però fer suplències no et dona estabilitat i així, buscant, vaig trobar que hi havia una vacant en aquest grup de la Universitat, em vaig informar del treball que duïen a terme i aquíestic.



**AD: Ha anat canviant la feina des de l'inici de la teva incorporació?**

**PM:** La feina ha anat creixent: vaig començar ajudant a les persones que ja hi havia al laboratori, fet que em va ser molt útil per aprendre les tècniques bàsiques de manipulació de DNA, PCR i seqüenciació. Després, vaig iniciar el treball en solitari fins arribar al que faig ara, ocupant-me de diversos casos de diagnòstic, el manteniment de la base de dades dels casos que estudiem, l'organització general del laboratori i les comandes del grup.

**AD: Quin és el teu dia a dia?**

**PM:** La feina bàsica és el diagnòstic. Ens organitzem en reunions setmanals, on les doctores exposen els casos que hem d'estudiar. S'examina cada cas tenint en compte la patologia segons l'informe clínic i, tot seguit, s'infereix el tipus d'herència segons les dades familiars del pacient i l'arbre genealògic confeccionat per les doctores. Amb aquesta informació es decideix l'estratègia a seguir per a cada un dels pacients. Qualsevol diagnòstic genètic comença amb l'obtenció del DNA genòmic de sang perifèrica o saliva. En el millor dels casos, només haurem d'analitzar manualment un o pocs gens candidats; però en el cas que hi hagi molts gens implicats, disposem d'uns xips comercials que realitzen una anàlisi directa d'aquelles mutacions ja descrites i ens faciliten la feina, tot i només tenir una eficiència del 45%. En aquells casos on no s'ha trobat la causa de la patologia pel procediment convencional comptem amb el xip de cosegregació dissenyat pel grup. Per acabar, fem l'anàlisi dels resultats obtinguts i els comuniquem en les reunions de grup, on es discuteixen els propers passos a seguir.

**AD: Creus que la teva feina s'ajusta a la idea que té la societat del que fa un tècnic? Creus que és una feina especialitzada?**

**PM:** Crec que es té una idea una mica confosa de la figura de tècnic de laboratori, fora de l'àmbit científic o sanitari. La gent pensa que un tècnic arregla màquines o són un tipus d'infermera. No són conscients que són tècnics, per exemple, els que realitzen la majoria de les proves en un hospital que porten a que el metge faci un diagnòstic. Diria que més que una feina especialitzada, que ho és, és una feina molt específica i depenent del teu lloc de treball pots desenvolupar-te professionalment més o menys.

**AD: I professionalment, creus que valoren la teva feina? Tenen en compte la teva opinió al grup?**

**PM:** La resposta es troba entre "el sí i el no", m'explicaré. Són les doctores les que tenen més informació i més coneixement i saben com gestionar-ho. Jo tinc l'experiència, per exemple, d'altres casos anteriors o la meva iniciativa per documentar-me sobre la patologia que incorporem en el diagnòstic. Cal ser conscients que actualment podem estar treballant aproximadament amb unes 20 malalties diferents, retinopaties o altres afectacions oculars, i no totes ho sabem tot. Precisament per això serveixen les reunions de grup, on posem en comú totes les dades, per dur a terme la feina més adequada fins arribar al diagnòstic.

**AD:** Creus que la investigació ha de tenir una estructura piramidal, és a dir, molts treballadors anònims a la base i un cap de grup que destaquí i prengui totes les responsabilitats?

**PM:** Sí que crec que cal una estructura que porti a una distribució de les responsabilitats, com si fos una empresa: el treballador, el cap de secció, el cap de grup, el directiu, etc. Però sobretot és necessari que la comunicació entre els diferents nivells sigui fluïda i els mèrits es reparteixin justament.

**AD:** Quina és la teva formació educativa? Creus que et va preparar de manera suficient per la teva feina?

**PM:** Vaig estudiar un mòdul de Grau Superior de Laboratori de Diagnòstic Clínic i també vaig fer un curs d'especialització en Hematologia però, clarament, la preparació no és suficient. La figura del tècnic a Espanya és diferent a Europa i aquí està molt orientada a la feina d'un hospital: microbiologia, etc. De genètica no havia fet res, i mentre he treballat aquí he fet diversos cursos de genètica pel meu compte i he anat formant-me de manera autodidacta. Hi ha molta informació i em sento còmode treballant perquè sé on estan les eines per trobar allò que em pugui faltar.

**AD:** És la primera feina en l'àmbit de la investigació a la Universitat?

**PM:** Sí. Jo venia d'un àmbit hospitalari però aquí, tot i fer recerca, és un camp molt aplicat, molt proper al diagnòstic. Hi ha diferència entre hospital i laboratori? Clarament. A l'hospital és més empresa: cadascú té la seva feina i és molt concreta, molt rutinària, més limitada. En el cas del laboratori a la Universitat està clar que sempre hi ha alguna tècnica que utilitzes de manera habitual però tots els casos són diferents i hi ha múltiples possibilitats per arribar a un diagnòstic.

**AD:** Compatibilitat feina i vida personal?

**PM:** És compatible, però depèn molt del grup de recerca on treballis. En general, comparant amb un hospital, aquí s'exigeix més, a tots els nivells: tècnics, treballadors, doctorands. Potser perquè els recursos són més limitats i cadascú és responsable dels casos que porta.

**AD:** Finalment, com a objectiu professional, preferiries quedar-te en un mateix grup o anar canviant per aprendre coses noves?

**PM:** La meua intenció és treballar en el món de la recerca, crec que et deixa més espai per créixer comparat, per exemple, amb la feina d'un hospital. Definitivament prefereixo quedar-me en l'àmbit de la genètica, bé des de la Universitat o bé en una empresa farmacèutica o biotecnològica, ja que tenen més recursos i una part molt àmplia de desenvolupament de nous fàrmacs i proves clíniques. Per ara, m'agradaria seguir en el grup on estic, contribuir al creixement de l'àrea del diagnòstic i ampliar el meu coneixement en aquest camp.

**Esther Pomares, pertany al grup des de 2002, postdoc des de 2009****Amanda Denuc: Com i quan vas començar en el grup de retinosi de la facultat?**

**Esther Pomares:** Sempre havia volgut dedicar-me a l'estudi genètic de les malalties hereditàries i un cop finalitzada la llicenciatura seguia pensant que la recerca m'agradava, però volia estar-ne segura. Per això, al 2002 vaig entrar al departament de Genètica per realitzar un màster experimental, treballant amb presenilines, unes proteïnes implicades a la malaltia d'Alzheimer. Al cap d'un any, es va presentar l'oportunitat de fer una tesi doctoral al grup de la Roser Gonzàlez, que estudiava les bases moleculars de la retinosi pigmentària. En aquells moments, em van oferir dues possibles línies d'estudi, una centrada en la cerca de nous gens i el disseny de xips de diagnòstic, i una altra dirigida a l'obtenció d'un model animal d'un gen recentment identificat. Vaig tenir clar que preferia la primera, i ara em dedico tant al diagnòstic genètic com a la recerca bàsica de les distròfies de retina.

**AD: Creus que la llicenciatura de Biologia et va preparar al nivell de la feina que fas?**

**EP:** Preparar-me sí, hi ha prou assignatures optatives per triar i jo vaig agafar totes les assignatures de Genètica que vaig poder! Però, evidentment, on s'aprèn a fer ciència és al laboratori: un màster, una tesi, etc. La carrera queda molt allunyada de la part experimental.

**AD: Quin és el teu dia a dia?**

**EP:** Si ens referim a la part de diagnòstic, bàsicament és organitzatiu, experimental no en faig. Inicialment atenem als pacients i fem una primera visita de consell genètic: quina malaltia tenen, tipus d'herència, quins poden ser els portadors i els afectes a la família, etc. Si el pacient vol fer-se l'estudi genètic, obtenim una mostra de sang i la portem al laboratori. Un cop aquí, presentem i valorem les possibilitats diagnòstiques de cada família amb les tècnics, la Pilar i la Sheila, i distribuïm els casos de manera que cadascuna d'elles realitza un seguiment de cada pacient des del principi fins al final. Malauradament, no sempre la clínica és clara, i a vegades no es pot saber quina és l'herència de la malaltia, però en grup discutim quina pot ser la millor estratègia: analitzar les mutacions conegudes mitjançant un xip comercial, o bé, si hi ha prou afectes a la família, fer una anàlisi amb el xip de cosegregació, d'on obtindrem una major probabilitat d'èxit. En el millor dels casos, l'estratègia seguida ens porta, o bé a una mutació coneguda, que és confirmada al laboratori de forma manual, o bé a un grup molt reduït de gens candidats, que s'analitzen al laboratori mitjançant seqüenciació manual, per identificar la mutació patogènica. El procés acaba amb l'elaboració d'un informe i l'entrega dels resultats als pacients, tot explicant la investigació realitzada i les possibilitats de teràpies futures. La teràpia gènica no està tan allunyada com alguns creuen, de fet per alguns gens una mica més freqüents que causen retinosi, els estudis ja es troben en fase clínica avançada i en dos o tres anys podrien ser una realitat.

**AD: Queden casos sense resoldre?**

**EP:** Hi ha alguns casos en els que no s'aconsegueix identificar la mutació patogènica però si s'han pogut descartar tots els gens de retinosi coneguts. Aquestes famílies són adequades per iniciar un estudi de cerca de nous gens. Al laboratori, a més de diagnòstic, també es fa recerca i

actualment hi ha dues doctorandes, la Marina i la Marta, que treballen en l'estudi de nous gens RP.

**AD: Consideres doncs que la teva feina és un treball en equip?**

**EP:** Totalment en equip. Parlem dels casos diàriament, som un grup molt ben coordinat i relacionat. A més a més de les dues tècnics hi ha les dues doctorandes i sempre ens ajudem i intentem optimitzar al màxim la feina que fem.

**AD: Consideres que la investigació ha de tenir una estructura piramidal per ser efectiva?**

**EP:** És complicat imaginar-ho... Evidentment sempre hi ha un responsable que pren les decisions, però en el nostre cas, a l'hora de treballar, és una comunicació contínua, fluïda, poc jeràrquica. Cadascú és responsable i especialista en la seva part de la feina.

**AD: Actualment, col·laboreu amb altres grups de recerca, amb hospitals o associacions?**

**EP:** A l'hora del diagnòstic col·laborem amb els clínics, per tenir unes dades acurades que ens permetin treballar sobre la patologia específica, i també amb l'empresa europea que processa algunes de les mostres en el xip de mutacions conegudes. També tenim una col·laboració activa amb un grup d'Estats Units que ens dona suport científic en la cerca de nous gens. Associacions d'afectats, l'ONCE o l'Hospital Central d'Astúries també ens dirigeixen pacients ja que, generalment el malalt desconeix la possibilitat de fer aquest diagnòstic i és el clínic, l'oftalmòleg en aquest cas, el que li ha de transmetre la importància de l'estudi genètic per conèixer els individus portadors a la família, així com la proximitat de les teràpies gèniques.

**AD: Creus que la societat sap i entén el què fas?**

**EP:** Al detall no ho crec, però sí que penso que els pacients a qui hem explicat en què consisteix el diagnòstic, sí que surten amb una idea força clara. Crec que la societat en general està molt allunyada de la genètica i considero que caldria fer molta divulgació i difondre aquest coneixement; saber que un diagnòstic genètic pot prevenir algunes malalties. Tota la societat s'hauria de familiaritzar amb els estudis genètics.

**AD: Així, es pot considerar que la ciència és cultura?**

**EP:** Si no ho és, ho hauria de ser. Potser a nivell educatiu caldria potenciar-ho més.

**AD: Opines que treballar amb una malaltia que afecta als humans fa que la teva investigació estigui més valorada?**

**EP:** Evidentment la recerca aplicada és molt més propera a la societat i potser té un *feedback* que, a nivell d'investigador, et fa sentir més recompensat; parles amb els pacients, els hi dones una informació acurada de la seva malaltia i en reps una resposta. És més social. Però no es pot parlar de recerca aplicada si abans no hi ha una recerca bàsica, com la que es fa a les universitats, per exemple.

**AD: Un cop arribat a aquest punt professional, quin pot ser el futur?**

**EP:** Reconec que quan estudiava BUP volia fer el que estic fent ara, malalties hereditàries i cerca de nous gens, així que puc dir que el meu somni s'ha complert. Ara m'agradaria dedicar-me més a la recerca aplicada, aquest punt mig entre clínic i pacient que, a vegades, no existeix. Intentar millorar la qualitat de vida dels afectes i pensar que en un futur hi haurà teràpia gènica per a la majoria de gens de retinosi, així com d'altres malalties, on el diagnòstic genètic serà més essencial que mai.

## Roser Gonzàlez, dirigeix el grup de retinosi des de 1990

### Amanda Denuc: Com i quan va començar amb la línia de recerca?

**Roser Gonzàlez:** El grup de genètica molecular humana neix al 1990. Havia treballat amb *Drosophila* –la mosca del vinagre– des de l’inici de la meua tesi, però vam arribar a un punt on la metodologia científica ens permetia obrir una nova línia d’investigació en genètica humana d’una certa envergadura. Vam contactar amb diferents grups que tenien pacients afectats de diverses patologies monogèniques i, coincidint en el temps, ens van concedir un projecte per l’estudi de patologies de la visió, en el nostre cas, retinosi pigmentària. Un cop entrats en aquest tema, es va veure que els gens coneguts que causen aquesta patologia explicaven un percentatge molt baix dels casos, en detriment del coneixement molecular de la malaltia i, de cara als afectats, limitava molt l’eficàcia del diagnòstic genètic. Engegar la cerca de nous gens va ser difícil amb les eines dels noranta, però cada cop s’ha anat millorant gràcies als avenços conceptuals i metodològics assolits a partir de la seqüenciació del genoma humà. Cal entendre que cada gen és com una petita peça d’una maquinària que et pot explicar les deficiències moleculars i cel·lulars associades a l’estat patològic. Després de conèixer els gens, el repte avui és entendre què fan, i malauradament encara estem molt lluny d’entendre les bases moleculars de la retinosi.

### AD: Considera que la ciència no ha de tenir fronteres? I per una altra banda, creu important que els investigadors hagin tingut experiència a l’estranger?

**RG:** La ciència no ha de tenir fronteres, i s’ha de fomentar la cooperació i l’intercanvi entre els grups de recerca de dins i fóra del país. Des d’una perspectiva “ideal” tothom pot competir. Dit això, la realitat no és tan simple i s’ha de reconèixer que les limitacions de recursos sovint frenen aquestes col·laboracions. Per la segona part, clarament un investigador en formació obtindrà molts beneficis d’una estada a l’estranger: no només aprèn a treballar d’una altra manera, sinó que la pròpia vivència t’estimula per veure la ciència des d’un altre punt de vista, t’ajuda a obrir noves perspectives i a replantejar i reflexionar sobre els teus propis reptes.

### AD: Creu que la societat sap i entén el què fa?

**RG:** La societat en general està força lluny de la genètica, malgrat es parla sovint en els medis de comunicació. En canvi els col·lectius d’afectats han fet un esforç molt important per estudiar i entendre “les causes genètiques de la seva malaltia”. Els hem visitat per tota Espanya i hem fet molta divulgació. En aquests col·lectius trobem molt bons interlocutors. Per suposat cal donar molta informació a la població, perquè són moltes les malalties que tenen una base genètica. La ciència és un substrat que t’ajuda a viure i raonar, i crec que moltes vegades falta el respecte pel coneixement i s’haurien de trobar fórmules per incrementar-lo des de l’educació primària i secundària.

### AD: Quina és la major aportació a la societat de la seva feina?

**RG:** M’agradaria pensar que la major aportació que puc deixar de la meua feina és haver contribuït a entendre les distròfies de retina. Molts pacients ens diuen que els agradaria creure que, potser no per ells, però si els seus fills en un futur, podran tenir un tractament que millori

o freni la progressió de la malaltia. El coneixement de les causes moleculars i cel·lulars de les patologies és la base per poder desenvolupar aquestes teràpies.

**AD: En aquests temps de crisi: qui finança la seva investigació? Quina és la seva opinió sobre el finançament a nivell Catalunya-Espanya-Europa-Estats Units?**

**RG:** La nostra investigació la financen organismes oficials i alguna entitat privada: la Generalitat, per ser un grup consolidat, el ministeri de Ciència i Tecnologia, el ministeri de Sanitat, a través de l'Institut Carles III i, per últim, hi ha fons d'associacions de pacients com l'ONCE o Retina Astúries. El finançament Catalunya-Espanya, en particular, presenta uns certs problemes actuals per mantenir grups que, en el seu moment, es van veure afavorits per la pròpia inversió de les diferents Comunitats Autònomes que ara no tenen pressupost. A nivell europeu, si ens comparem amb Alemanya, Anglaterra o França, la despesa en recerca a Espanya és molt inferior. Malauradament amb EEUU no ens podem comparar, ells juguen a primera línia i són el primer equip.

**AD: Considera que la ciència ha de tenir una estructura piramidal, amb molts treballadors anònims a la base i un o dos investigadors principals que destaquin?**

**RG:** Perquè la ciència sigui productiva, els grups han de ser relativament petits, molt àgils i dinàmics. Per fer ciència és necessari el diàleg, la discussió constant i un grup de 20 ó 25 persones no sol ser, en proporció amb els medis que reben, ni el més original ni el més efectiu.

**AD: Quin és el seu dia a dia?**

**RG:** És molt dur! No perquè no m'agradi el que faig, sinó perquè sembla que per nedar un metre has de recórrer molta més distància: els temes administratius són excessivament complexes i ineficients, aconseguir finançament és difícil, mantenir un laboratori en marxa sovint és esgotador. Per això no em sorprèn les desercions de persones de mitjana edat en el món de la Universitat. Com a dona, vaig viure una època en la que la societat qüestionava durament la dedicació "intensiva de la dona a la recerca" perquè l'allunyava de les seves obligacions familiars. Avui dia, ningú qüestionava que la dona treballi, però la competència científica l'exclou de la primera línia professional, amb poques excepcions.

**AD: Així, la ciència és un món d'homes o dones?**

**RG:** És un món de tots, però en general els homes o tenen més fàcil per poder-se dedicar a la ciència sense que ningú, socialment, els hi retregui que no tenen temps per anar a recollir els nens a l'escola o ocupar-se de la família. Existeix una responsabilitat tangible, fins i tot a les parelles joves, no és fàcil trobar una via per compatibilitzar les dues coses.

**AD: Considera, doncs, que la ciència és una feina o és vocacional?**

**RG:** És molt important que sigui totalment vocacional, és la base de l'excel·lència professional.

**AD: Quina és la seva definició per un "científic d'èxit"?**

**RG:** És una persona que ha trencat coneixements preexistents i les seves evidències experimentals han produït avenços importants en el coneixement. La repetició, en ciència, té

un valor relatiu i, en canvi, la innovació, la originalitat tenen un gran valor. Aquesta originalitat és difícil de quantificar, sovint es fa superficialment. Un gran científic com Francis Crick té unes 90 publicacions i ningú dubte de la seva enorme contribució a la Biologia Molecular.

**AD: Per últim: val la pena l'esforç?**

**RG:** Quan has esmerçat tota la teva vida, és molt difícil fer un balanç negatiu; els moments bons han superat els dolents i el més important és que, en tot el camí, haig de reconèixer que ho he passat molt bé.



## Què en sabem del diagnòstic genètic?

**-Es coneixen fins a 6000 malalties d'origen genètic i d'aquestes, unes 2000 ofereixen la possibilitat de ser diagnosticades mitjançant un test experimental-**

Són moltes les malalties que tenen el seu origen en un defecte genètic i encara més si comptem que determinades mutacions, tot i no ser causals, augmenten la susceptibilitat a desenvolupar determinades patologies. En el cas de les retinopaties, determinats laboratoris a nivell nacional o internacional, ofereixen la possibilitat de l'estudi puntual de determinats gens majoritaris. A nivell d'empresa europea, és Asper Biotech —la mateixa empresa amb la que treballa el grup de la facultat de Biologia— la que ofereix un estudi automatitzat dels gens majoritaris d'aquestes afectacions oculars. Però recordem que només es cobreixen un 35% dels casos, i aquesta és la importància de la feina que es duu a terme a la Universitat de Barcelona, on el diagnòstic té una cobertura més ampla, gràcies a la utilització d'un nou xip d'exclusió per lligament —xip d'SNPs—, i on es combina amb la recerca experimental per a la caracterització de nous gens.

Les retinopaties són només un exemple de malalties hereditàries, ja que el llistat és extens i en constant renovació, degut als avenços científics que cada cop descriuen més acuradament l'origen de les malalties més habituals o més estranyes. Parlem de la fibrosi cística, l'hemofília, la síndrome de Marfan, la talassèmia, la síndrome de Prader-Willi, el càncer de mama i ovari, etc. Si es vol més informació, a la xarxa trobem diferents portals d'interès com: *GeneTests* ([www.genetests.org](http://www.genetests.org)), una web que proporciona un llistat complet i actualitzat de malalties, a més d'informació clínica i laboratoris on es duen a terme els diferents tests genètics; o també, la base de dades OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*: [www.ncbi.nlm.nih.gov/omim](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim)) amb informació extensa dels diferents gens afectats i els treballs científics relacionats.

### L'ús dels estudis genètics

Si bé l'ajut d'un metge, un especialista clínic, ens permet pal·liar els símptomes i disminuir el sofriment físic, conèixer la causa de l'afectació, permet millorar el diagnòstic i avaluar el millor tractament i pronòstic d'aquesta patologia. Tot i així, una de les majors dificultats ha estat sempre l'accessibilitat de la societat a aquests recursos. Per una banda, el desconeixement, i per l'altra, el cost econòmic, fan que una família amb un o dos membres afectats no es plantegin la possibilitat de fer-se un estudi genètic. Per sort, cada cop hi ha més informació accessible i és major l'interès individual per trobar una resposta, així com també és major l'aportació científica i la reducció dels costos a mesura que passen els anys. Ara bé, cal recordar que un anàlisi genètic ha d'anar precedit per una recomanació mèdica i cal que sigui realitzat per un laboratori acreditat.

Una de les majors preocupacions dels afectats per una malaltia genètica és la probabilitat de transmetre-la a la descendència, i un diagnòstic genètic pot reduir-ne les possibilitats. Sabent el tipus d'herència de l'afectació i determinant si un individu és afecte, portador o sa, es pot donar un consell genètic per a la parella que vulgui concebre. En el cas que el fill ja estigui de

camí, a nivell hospitalari és habitual la realització de cariotips, una prova experimental on s'estudia l'aparença estructural dels cromosomes dels fetus o recent nascuts, detectant variacions, sovint malformacions, visibles a través d'un microscopi. Però per al diagnòstic genètic parlem d'un estudi molt més complex, on s'estudia el genotip, és a dir, la composició de l'ADN mitjançant seqüenciació, la mateixa tècnica que s'ha utilitzat per desxifrar el genoma humà.

Existeix també el diagnòstic genètic preimplantacional (DGP), una eina utilitzada de manera rutinària als serveis de fecundació *in vitro*. L'estudi genètic es realitza sobre embrions, de manera a seleccionar determinades característiques o eliminar aquells que carreguen un defecte congènit. Sense entrar en el caràcter moral de la selecció genètica, en aquest cas, el consell mèdic ha de ser estricte i no oblidar el caràcter ètic de treballar amb embrions.

En resum, l'estudi genètic és una eina que cal utilitzar per reduir el sofriment de malalts i família, així com per conèixer les possibilitats de tractament. No es pot oblidar que l'aproximació a aquestes malalties està portant al desenvolupament de teràpies gèniques, cada cop més properes i més reals per aquells individus que coneguin l'origen de la seva malaltia.

## Bibliografia

1. Retinosis pigmentaria. Preguntas y respuestas. Cátedra de Investigación en Retinosis Pigmentaria "Bidons Egara" de la Universidad Miguel Hernández, 2007.
2. Miquel Tusón, Gemma Marfany & Roser Gonzàlez-Duarte. Mutation of CERKL, a novel human ceramide kinase gene, causes autosomal recessive retinitis pigmentosa (RP26). *Am J Hum Genet.* 2004 Jan;74(1):128-38
3. Esther Pomares, Gemma Marfany, M<sup>a</sup> José Brión, Angel Carracedo & Roser Gonzàlez-Duarte. Novel high-throughput SNP genotyping cosegregation analysis for genetic diagnosis of autosomal recessive retinitis pigmentosa and Leber congenital amaurosis. *Hum Mutat.* 2007 May;28(5):511-6.
4. Esther Pomares, Marina Riera, Jon Permanyer, Pilar Méndez, Joaquín Castro-Navarro, Ángeles Andrés-Gutiérrez, Gemma Marfany & Roser Gonzàlez-Duarte. Comprehensive SNP-chip for retinitis pigmentosa-Leber congenital amaurosis diagnosis: new mutations and detection of mutational founder effects. *Eur J Hum Genet.* 2010 Jan;18(1):118-24.
5. Esther Pomares, Gemma Marfany & Roser Gonzàlez-Duarte. High-Throughput Approaches for the Genetic Diagnosis of Retinal Dystrophies Retinal Degenerative Diseases, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Chapter 43 (en premsa).