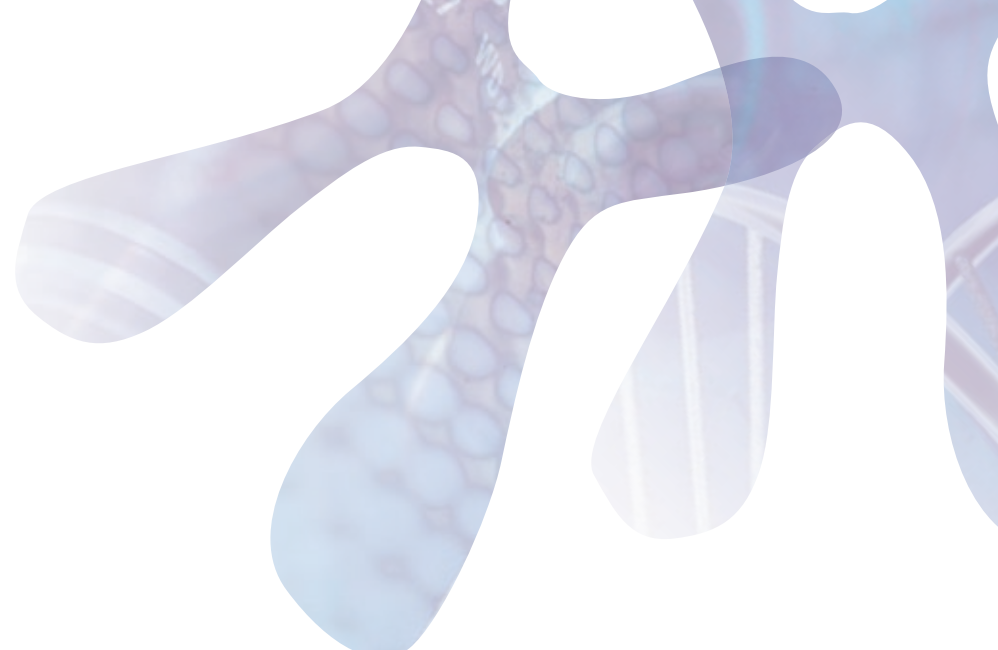


DOCUMENTO DE CONCLUSIONES

SECUENCIACIÓN GENÓMICA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA



SECUENCIACIÓN GENÓMICA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Centro de Investigación Príncipe Felipe

Valencia, 24 de enero de 2013

Con la colaboración de



*Jefe del Grupo de Citogenética Molecular.
Centro Nacional de Investigaciones
Oncológicas (CNIO). Madrid*

Director del Departamento de Genómica
Computacional del Centro de Investigación
Príncipe Felipe (CIPF). Valencia

PANEL DE EXPERTOS

*Director de la Unidad Gestión
Clínica de Genética, Reproducción
y Medicina Fetal. Hospital Virgen
del Rocío. Sevilla.*

*Jefa del Servicio de Genética.
Instituto de Investigación Sanitaria
Fundación Jiménez Díaz. Madrid*

*Jefa del Servicio de Genética.
Hospital Santa Cruz y San Pablo.
Barcelona*

Director de la Unidad de Consejo
Genético. Programa de Cáncer
Hereditario. Institut Català d'Oncologia
(ICO). Barcelona

Director del Programa de Genética del
Cáncer Humano. Centro Nacional de
Investigaciones Oncológicas (CNIO).
Madrid

Responsable del Plan Director de
Oncología de Cataluña. Coordinador
Científico de la Estrategia Nacional en
Cáncer del Sistema Nacional de Salud

Director de la Fundación Pública Gallega de Medicina Genómica (SERGAS)

*Responsable del Laboratorio de
Citogenética Hematológica. Servicio de
Hematología. Hospital Universitario y
Politécnico La Fe. Valencia*

Director de Gestión Sanitaria.
Agencia Valenciana de Salud.
Conselleria de Sanitat

Director del Centro Nacional de
Análisis Genómico (CNAG).
Barcelona

*Osteba-Servicio de Evaluación de
Tecnologías Sanitarias.
Departamento de Salud.
Gobierno Vasco*

Director-Coordenador del Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM). IDIPaz-Hospital Universitario La Paz. Madrid

Consejero Delegado de Progenika
Biopharma S.A.

*Investigadora. Cátedra de Derecho
y Genoma Humano. Universidad
del País Vasco. Bilbao*

*Jefe de Grupo de Modelización
Molecular y Bioinformática.
Instituto de Investigación
Biomédica (IRB). Barcelona*

*Director del Programa
de Enfermedades Raras y Genéticas,
Centro de Investigación
Príncipe Felipe (CIPF).
Director Científico del CIBER de
Enfermedades Raras (CIBERER)*

Catedrático de Genética. Universidad Pompeu Fabra y CIBER Enfermedades Raras. Barcelona

Director Científico. Instituto de
Formación e Investigación Marqués de
Valdecilla. Santander

Responsable Técnico. Unidad de
Genómica Cantoblanco. Fundación
Parque Científico
de Madrid

Director del Grupo de Carcinogénesis Epitelial (Programa de Patología Molecular). Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Madrid

Adjunto al Director de la Agencia
Española de Protección de Datos. Madrid

Coordinador Científico del Proyecto
Genoma Médico de Andalucía. Centro
Andaluz de Secuenciación Genómica
Humana. Sevilla

Director de la Plataforma Genómica y Bioinformática. Instituto de Medicina Predictiva y Personalizada del Cáncer (IMPPC). Badalona

Director del Programa de Biología
Estructural Computacional. Centro
Nacional de Investigaciones Oncológicas
(CNIO). Madrid

© 2013 de esta edición: Spanish Publishers Associates. Avda. de Córdoba, 21 3.ª 28026-Madrid

Las opiniones aquí vertidas son responsabilidad única y exclusiva de los autores, sin que tengan ninguna vinculación con las instituciones en las que trabajan.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	7
PRESENTACIÓN	9
SESIÓN 1. Perspectivas tecnológicas, aspectos organizativos y estrategias de secuenciación	12
SESIÓN 2. Bioinformática o el reto del manejo, la transferencia y la protección de datos	14
SESIÓN 3. Interpretación biológica: desde los datos de secuenciación filtrados al informe	18
SESIÓN 4. Aspectos legales y éticos de la información al paciente en la práctica clínica	20
SESIÓN 5A. Aplicaciones y perspectivas en enfermedades hereditarias/raras	24
SESIÓN 5B. Aplicaciones y perspectivas en el cáncer	28
SESIÓN 6. Incorporación e impacto en el SNS. Retos para la evaluación, planificación y asistencia sanitaria	32

INTRODUCCIÓN

El uso cada vez más extendido de metodologías de alto rendimiento, especialmente la secuenciación masiva de genomas, está a punto de cambiar el panorama de la clínica en un futuro inminente. En el terreno de la investigación, la secuenciación genómica se ha empezado a aplicar, con un gran éxito, en el descubrimiento de genes de enfermedades mendelianas y en el cáncer. La secuenciación genómica se perfila, por lo tanto, como la herramienta ideal para hacer realidad las promesas de la Medicina Personalizada. Entre otras causas, la popularización del uso de las tecnologías de secuenciación masiva se debe a sus precios: el coste de un exoma en la actualidad ronda los mil euros y la tendencia de los precios ha sido hacia la reducción del precio a la mitad cada ocho meses, aproximadamente. Esto quiere decir que su precio será equiparable al de muchas pruebas analíticas en un plazo de dos años, como mucho. Es fácil ver el potencial que tiene la secuenciación genómica para incorporarse en la práctica clínica rutinaria en un plazo relativamente breve. Ante este escenario es preciso plantearse el impacto que esta práctica va a tener en los sistemas sanitarios y en la toma de las medidas adecuadas para su futura implantación.

Sin embargo, a pesar de su indiscutible potencial como elemento básico de la Medicina Personalizada, capaz de mejorar la atención al paciente y sentar las bases de los tratamientos racionales y de una sanidad mucho más cercana a la sostenibilidad, la secuenciación genómica presenta una serie de retos tecnológicos, éticos y legales aún no resueltos.

Es evidente que hay un enorme reto tecnológico en cuanto a la propia obtención de estos datos, su fiabilidad y su certificación como prueba clínica aceptada. También, desde un punto de vista informático, el manejo, el almacenamiento y la consulta del enorme volumen de datos que estas tecnologías producirán, cuando se usen de forma sistemática, un problema de complicada solución con el *hardware* y *software* existentes en la actualidad.

Por otra parte, la utilidad clínica de la secuenciación genómica depende críticamente de la presentación de los resultados al facultativo de una forma que le sea inteligible y clínicamente útil. Además, en el contexto de la Medicina Preventiva, la utilidad de la secuenciación genómica depende de la posibilidad de explotación retrospectiva de los datos genómicos de los pacientes. Cambiando de contexto, existen obstáculos potenciales al aprovechamiento óptimo de los datos genómicos que son de carácter legal, en relación con la legislación sobre la protección de datos, o de carácter ético, en el sentido de la información no solicitada que se obtiene colateralmente en una secuenciación genómica hecha con un objetivo determinado. Finalmente, otros dos importantes problemas son la falta de formación del facultativo, que se ha de enfrentar a un tipo de dato completamente distinto de lo que estaba habituado y, sobre todo, a la carencia de profesionales con un perfil de técnico especializado en el manejo y el análisis de datos genómicos en el mercado laboral, así como en los programas docentes de las universidades españolas.

La propuesta de soluciones a todos estos nuevos problemas y retos no se puede abordar de forma independiente y des-coordinada, por lo que parecía prioritario reunir expertos de distintos campos para debatir y poner en común soluciones,

procedimientos de actuación y sugerencias a los distintos estamentos políticos, hospitalarios, educativos y empresariales, tanto autonómicos como estatales.

Esta conferencia consenso ha reunido 25 expertos de diferentes disciplinas (clínicos, bioinformáticos, expertos en regulación y leyes, etc.) en una serie de mesas redondas en las que se han discutido los retos y problemas planteados, junto con la visión de futuro de la aplicación de la genómica en la práctica clínica.

Bastantes de las conclusiones y recomendaciones alcanzadas y explicitadas por los grupos de discusión son recurrentes y señalan algunos puntos comunes sobre los que es necesario tomar decisiones inmediatas. Por un lado, incorporar la tecnología de secuenciación masiva a la práctica clínica no es solo una opción o una elección, sino que es una necesidad insoslayable para asegurar la mejor Medicina posible. España no puede quedar al margen o pagará un precio muy alto en dependencia tecnológica. Tenemos las herramientas y los profesionales que lo pueden y, de hecho, lo están empezando a hacer posible. Es tarea de todos, pero sobre todo de las diferentes administraciones públicas, asegurar que esa incorporación se produzca de la mejor manera posible; es decir, con criterios de efectividad, eficiencia, equidad y manejo diferencial entre investigación y aplicación sanitaria con validez clínica. Además, la Administración y los profesionales tendrán que dialogar para definir el marco legal, las consecuencias éticas y los cambios organizativos (profesionales y estructurales) que supondrá la incorporación (muchas de ellas descritas en detalle en este documento). Por otro lado, todos los participantes en este trabajo han recogido la necesidad de modificar y de ampliar la formación de los profesionales sanitarios que intervienen en el proceso de trasladar los hallazgos genómicos al paciente; el personal de laboratorio, los analistas de datos, los bioinformáticos, los prescriptores y muy especialmente los genetistas clínicos.

Para finalizar, este trabajo pone en valor un mensaje que, no por conocido, es menos importante; que la cooperación entre las instituciones de investigación, los hospitales y la industria farmacéutica es la base para la mejor aplicación de este conocimiento en el beneficio del paciente.

Juan C. Cigudosa, Joaquín Dopazo

PRESENTACIÓN

Las metodologías de alto rendimiento, en especial la secuenciación de nueva generación (NGS, siglas de *Next Generation Sequencing*), están cambiando el escenario actual en el que se procede al diagnóstico y el tratamiento de la mayor parte de las enfermedades.

Estos recursos se están aplicando en el descubrimiento de genes de enfermedades mendelianas, pero también en la identificación y análisis de los diferentes tipos de cáncer, de múltiples enfermedades del sistema nervioso central, de las denominadas raras...

En definitiva, son la herramienta adecuada para hacer realidad las expectativas puestas en la Medicina Personalizada. La reducción de los costes asociados con el desarrollo de estas tecnologías está haciendo posible que la NGS sea accesible y se convierta en un plazo muy corto de tiempo en un recurso habitual en la práctica clínica rutinaria.

Todo ello ha hecho que desde el Instituto Roche nos hayamos planteado el estado actual del conocimiento en esta materia, la previsión a corto plazo, el impacto que esta práctica está teniendo y, sobre todo, que va a tener en nuestro sistema sanitario.

Para ello, propusimos a expertos en diferentes disciplinas participar en una jornada que nos permitiese ir preparando el camino de la introducción de los datos genómicos en la práctica clínica, analizar los retos que se irán planteando, proponer algunas soluciones y elaborar un documento de conclusiones como el que ahora presentamos.

Nada más hacerse pública esta iniciativa, la demanda cubrió inmediatamente el aforo, por lo que nos vimos obligados a limitar el acceso en persona a esta jornada; sin embargo, y dado el interés suscitado, nos comprometimos a la divulgación de la misma, en tiempo real, utilizando las nuevas tecnologías (vía *streaming*) y dando cabida a las redes sociales (Twitter, LinkedIn, Facebook, Youtube...) más utilizadas. Esta cita ha significado un punto de inflexión en nuestras actividades no solo por la temática tratada (pionera en España), sino por la divulgación conseguida inmediatamente, e incluso posteriormente.

En este momento el reto tecnológico está no solo en la obtención de datos, sino también en su clasificación, almacenamiento, manejo, validación como prueba clínica y la consecuente aplicabilidad para el médico y el paciente. Además, hemos de tener en cuenta aspectos legales y éticos, así como los relativos a la protección de datos, que cuando son como consecuencia de un análisis genómico adquieren una connotación diferente (y, especialmente, si estamos ante una información no solicitada obtenida tras una secuenciación genómica).

Todas estas cuestiones han sido abordadas en la citada jornada y son recogidas en este documento, que tiene como finalidad el acercamiento a las mismas para aquellas personas interesadas en profundizar en el conocimiento sobre lo que significan

estos avances, contados por quienes están contribuyendo desde diferentes ámbitos a su avance. Además, también estos contenidos están disponibles en la web www.institutoroche.es, con objeto de garantizar su máxima difusión y divulgación, que pasa por ser uno de los objetivos principales de la filosofía que preside el Instituto Roche.

Es importante que los procedimientos, los servicios, las nuevas especialidades, los profesionales implicados, los gestores, los responsables políticos, los pacientes... y la sociedad en general sean conscientes del cambio paradigmático que supone en la Medicina la irrupción de la secuenciación genómica, tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de las enfermedades, e incluso, y por ello no menos trascendente, en el periodo previo a que estas aparezcan.

El desarrollo de la secuenciación genómica en la práctica clínica estará sujeto, como no podría ser de otra forma, a requerimientos de garantía de calidad que incluirán la forma en la que se realiza la prestación de dichos servicios. Se exige una adecuación en aspectos de organización, formación y capacitación, así como en la acreditación y validación, y la información y conocimiento que los diferentes profesionales y la ciudadanía tengan de todo ello.

Esto, además, en un entorno en el que las tecnologías de la información y la comunicación hacen de su difusión su mejor aliado para su implantación en las condiciones adecuadas de equidad en su acceso y su contribución a la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud.

Desde el Instituto Roche llevamos casi una década contribuyendo a que todo lo anterior sea una realidad lo antes posible y en las mejores condiciones, especialmente para pacientes y profesionales sanitarios.

Gracias a todos lo que han hecho posible esta jornada, a los que han compartido su experiencia y conocimiento y a los que seguirán acompañándonos en este apasionante reto que supone ver cumplido el sueño de los profesionales sanitarios, identificado en la expresión “no hay enfermedades, sino enfermos”.

Un nuevo conocimiento aportado por innovadoras y potentes tecnologías nos están permitiendo establecer diagnósticos más certeros y precisos, así como tratamientos más seguros y eficaces.

Jaime del Barrio
Director General del Instituto Roche

SESIONES

SESIÓN 1. Perspectivas tecnológicas, aspectos organizativos y estrategias de secuenciación

Moderador: Ivo Gut
Panel: Ricardo Ramos-Ruiz, Javier Santoyo, Lauro Sumoy

Introducción

La secuenciación genómica es un campo que evoluciona muy rápidamente. Desde los primeros estudios hasta hoy han surgido diferentes tecnologías que se pueden clasificar en cuatro grupos:

- **1.ª generación:** método clásico de Sanger. El concepto que rige este método es la secuenciación de grupos de moléculas que representan la parte del genoma en la que el investigador está interesado. No permite el estudio individual de una sola molécula de ADN.
- **2.ª generación:** actualmente es la tecnología que más se utiliza en investigación y consiste en fragmentar el genoma en secuencias relativamente pequeñas, amplificar estos fragmentos y formar colonias individuales para secuenciarlas todas en paralelo, de forma masiva, con un método de replicación y detección óptica. Respecto al método Sanger, es una tecnología de secuenciación mucho más económica y rápida, y el volumen de datos generados es mucho mayor.
- **2.ª generación (y media):** utiliza también un método de replicación clónica para determinar la ubicación de las bases en una posición concreta del genoma. En vez de utilizar un sistema óptico, utiliza un sistema electrónico o soluciones de ingeniería muy refinadas para identificar las bases individuales.
- **3.ª generación:** actualmente se aplica para leer directamente la molécula de ADN. Funciona haciendo pasar una sola hebra de ADN a través de un nanoporo con una corriente eléctrica que fluye a través de los poros; las distintas bases de ADN interrumpen la corriente de formas diferentes, permitiendo que la máquina lea electrónicamente la secuencia. Actualmente se están desarrollando sistemas de dicha generación.

La tecnología, que se está empezando a aplicar en la práctica clínica y que es el objeto de esta sesión, es la secuenciación de 2.ª generación. Sin embargo, su traslación a la práctica clínica presenta algunos desafíos que todavía están por resolver.

- El genoma humano está formado por unos tres mil millones de pares de bases. Para obtener la secuencia completa hay que secuenciar cada fragmento más de 30 veces. Esto genera un volumen de datos inmenso que hay que procesar y analizar computacionalmente. Los bioinformáticos comparan el genoma analizado con el genoma de referencia y buscan las diferencias entre uno y otro para extraer la información biológicamente valiosa. Este proceso requiere una capacidad computacional muy elevada que no sería fácil trasladar a la práctica clínica.
- El proceso de secuenciación de un genoma humano hasta obtener un diagnóstico es aún demasiado largo. Se necesita una semana aproximadamente para preparar la muestra, unas dos semanas para secuenciarla y un par de semanas más para analizar los resultados. Para que la secuenciación sea eficiente, dentro de la práctica clínica, se debería conseguir un diagnóstico en unas pocas horas.
- Cuando se secuencia un genoma humano se localizan unos 3,5 millones de polimorfismos; cada polimorfismo podría indicar que en esa región se encuentra un gen que determina la susceptibilidad a una enfermedad concreta. Toda esta información es imposible de analizar. Los hallazgos casuales son problemáticos, ya que, en la práctica clínica, los doctores tienen la responsabilidad de informar a los pacientes y es difícil determinar la importancia de cada uno de estos polimorfismos.

Conclusiones y recomendaciones

La tendencia actual en la investigación genómica es la generación de paneles específicos para determinadas patologías que contengan cientos de genes, muchos más de los que actualmente se utilizan en el diagnóstico que utiliza tecnologías de secuenciación genómica de primera generación, pero están aún limitados respecto al tamaño de un exoma o de un genoma completo.

Parece obvio que, en el futuro, el diagnóstico se hará a través de la secuenciación del genoma completo y esto será posible cuando:

- La secuenciación se pueda hacer de manera automatizada y el resultado sea fácilmente interpretable sin requerir de mucha intervención humana.
- El trabajo (*pipelines*) de los centros de investigación genómica genere unos resultados bien digeridos con los que los doctores puedan trabajar.
- La tecnología que se necesita para secuenciar pueda trasladarse de los centros de investigación a los centros hospitalarios. Es imposible para ningún centro secuenciar todos los genomas de los casos de cáncer, que se diagnostican cada año en España (unos 200.000). Lo que se necesita es una transición que mueva esta tecnología de secuenciación y análisis de los centros de investigación a la práctica clínica. Una vez allí los médicos deben empezar a estudiar paneles específicos de enfermedades para conseguir resultados fiables con los que se pueda trabajar.
- La transición de los centros de investigación a la práctica clínica tiene que ser gradual y segura. Es muy importante que los investigadores y los médicos trabajen juntos para conseguirlo. Los investigadores tienen que trabajar muy cerca de los médicos para ayudarles con el problema del gran volumen de datos.
- Hay que conseguir reducir el coste y el tamaño de los datos de secuenciación. Para lograrlo es necesario depurar los datos en bruto que generan los secuenciadores, y validarlos y verificarlos hasta conseguir un archivo de datos interpretados con el que sea fácil trabajar.

La transición de la secuenciación genómica a la práctica clínica ya se ha iniciado. Sin embargo, este no es un camino fácil, y se necesitará un gran esfuerzo de ambas partes para conseguirlo y para que el paciente pueda beneficiarse de estos avances.

SESIÓN 2. Bioinformática o el reto del manejo, la transferencia y la protección de datos

Moderador: Alfonso Valencia
Panel: Gregorio Gómez, Modesto Orozco, Jesús Rubí

Introducción

Las tecnologías genómicas han cambiado de modo radical la investigación en Biología y Biomedicina. Sin embargo, la aplicación de este enorme potencial en la Medicina, el desarrollo de fármacos y el diseño de nuevas terapias requiere resolver los nuevos desafíos relacionados con el manejo, la transferencia, la protección y la explotación de los datos, así como de su integración con el resto de la información médica.

El reciente debate tras la secuenciación del genoma de la línea celular HELA puede servirnos para introducir los conflictos que el uso de la información genómica plantea en estos momentos. Las células HELA se derivaron de una muestra de un tumor de ovario de Herietta Lacks y han servido de instrumento básico de investigación desde entonces. La polémica en torno a las posibles implicaciones científicas y médicas de este estudio, y en especial sobre al tipo de consentimiento requerido, revelan las limitaciones de la normativa existente. Limitaciones que no son sorprendentes puesto que solo ahora empezamos a entender las características de confidencialidad específicas de esta información. La relativa facilidad con que es posible descubrir la identidad de los donantes a partir de su información genómica y la posible utilización de esta información para deducir la incidencia de enfermedades, tanto a nivel individual como para los familiares, hacen que la información genómica sea muy distinta de otro tipo de información bioquímica o epidemiológica con la que hemos tratado hasta ahora.

Por tanto, nos encontramos en un momento crucial en el que la genómica y la bioinformática pueden realizar una contribución decisiva a la Medicina pero, para ello, debe ser posible acceder a la información genómica y médica, resolviendo los problemas técnicos, organizativos y legales que implica.

Conclusiones y recomendaciones

La secuenciación del genoma humano constituye, sin duda, un hito histórico que dio inicio a la rápida progresión de la Genómica, cuya influencia ha traspasado la ciencia básica para influir decisivamente en la Medicina, con las correspondientes repercusiones sociales, legales y éticas.

De hecho, nos vemos continuamente sorprendidos por la creciente facilidad con que las nuevas tecnologías de secuenciación proporcionan información sobre la composición genética y las características genómicas asociadas, iniciando una revolución conceptual cuyas implicaciones apenas empezamos a entrever. Aunque las expectativas creadas por los proyectos de secuenciación genómica pueden haber sido excesivas en algunos casos, los cálculos publicados recientemente por *Life Technologies Foundation* (<http://www.genome.gov/27544383>) estiman que la inversión inicial entre 1990-2003 de \$3.800M\$ en el proyecto de secuenciación del genoma humano han generado más de \$796.000M\$ entre 1988 y 2010 (un retorno de 141:1) y desarrollado toda una nueva industria. Aunque es imposible saber cuáles serán las consecuencias económicas de los nuevos grandes proyectos, como ENCODE (en.wikipedia.org/wiki/ENCODE), las expectativas generadas en Medicina son sin duda muy altas.

Sin embargo, la información genómica es de una naturaleza distinta a la genética, médica o epidemiológica que hemos venido manejando hasta ahora. De hecho, trabajos recientes (<http://1.usa.gov/YP5EC2>) revelan que es relativamente fácil descubrir a los donantes a partir de su información genómica. Una situación que ha llevado a confinar toda una serie de genomas en bases de datos de acceso restringido monitorizadas por comités de acceso específicos.

La información genómica tiene características especiales, no solo por la dificultad para mantener el anonimato de los donantes, sino por sus implicaciones para los familiares (pensemos en el caso extremo de los gemelos) y por la necesidad de informar a los pacientes sobre los riesgos de enfermedades que no se plantearon en el estudio original (<http://stanford.io/Y01sZd>). Además, la información genómica plantea nuevos problemas sobre cómo manejar la relación entre las características genómicas y la tendencia a desarrollar una determinada enfermedad, y cuáles son las repercusiones de esta información sobre los hábitos de vida, los posibles tratamientos preventivos y su incorporación en el sistema de salud y a los seguros médicos.

La reciente publicación por el Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL) de un estudio genómico completo de la línea celular HELA (<http://bit.ly/16p0iUp>), mencionado en la introducción, ilustra las dificultades con las que el uso de la información genómica se enfrenta en este momento (<http://nyti.ms/X286HZ>). Esta línea celular se derivó de una muestra de un tumor de ovario de Henrietta Lacks en 1951 y desde entonces han sido un instrumento básico de investigación (<http://amzn.to/jGCiLC>). Esta nueva información puede ser importante para la interpretación de los numerosos experimentos que se han realizado en esta línea celular, y por sí mismos revelan la complejidad asociada a su capacidad proliferativa como línea inmortal derivada de un tumor.

Inmediatamente tras la publicación, se desató un intenso debate sobre la propiedad de esta información y sobre la necesidad de un consentimiento informado por parte de la familia de Henrietta (es interesante que una parte sustancial de esta discusión tiene lugar en medios como Twitter, más que en periódicos y revistas científicas) (<http://n.pr/110xS0y>).

El caso es interesante puesto que ese consentimiento no es legalmente necesario en Alemania (donde se realizó el estudio); se trataba de un donante fallecido hace tiempo y ni los editores, ni los evaluadores del trabajo pensaron en la necesidad

de obtener ese consentimiento, ni de informar a la familia de Henrietta. Finalmente, los autores razonaban que los muchos cambios sufridos por esta línea celular desde su generación harían imposible obtener información relevante sobre la donante original (<http://bit.ly/ZGmbJt>). Es un argumento que fue rápidamente desmontado por varios trabajos, que demostraron que las variantes detectadas en la línea celular revelan características de la donante con posibles implicaciones para el riesgo de los familiares para sufrir determinadas enfermedades (<http://bit.ly/YYmnSr>). A partir de este punto los autores del trabajo inicial retiraron la información genómica del acceso público (aunque para entonces ya había sido descargadas en múltiples sitios).

Discusiones posteriores dejaron claro que, de hecho, antes de esta publicación, otros muchos proyectos, incluyendo el ENCODE, habían publicado suficiente información para reconstruir las características principales de este genoma y, por tanto, la discusión sobre las células HELA puede tener un mayor alcance que las limitadas a una sola publicación. Por otra parte, y a modo de contraste, es también cierto que, durante los últimos años, varios investigadores han hecho públicos sus genomas, en un intento de relativizar la importancia de esta información y mostrar su utilidad para prevenir enfermedades (<http://1.usa.gov/173zJ7o>).

Toda esta discusión en torno a las células HELA revelan que el tratamiento de la privacidad de la información genómica no está suficientemente maduro, con diferencias muy considerables en la legislación de los distintos países. Además, es evidente que la legislación y la normativa tienen muchas dificultades para adaptarse a la rápida evolución de la tecnología. De hecho, la regulación referente al intercambio de muestras y datos, con sus limitaciones y compromisos, fue diseñada pensando en tecnologías y aproximaciones que no tienen la extensión, complejidad e implicaciones de los datos genómicos.

En resumen, el futuro de la Medicina Personalizada depende de nuestra capacidad para acceder a los datos genómicos y relacionarlos con la información médica. En la medida en que este acceso se limite, disminuirán la capacidad para estudiar la relación entre las variantes genómicas y las enfermedades, y para diseñar terapias adecuadas a esta información. Ni que decir tiene que, además del desarrollo de la actividad económica en este entorno, este se verá favorecido en los países en los que el acceso a la información genómica sea más fácil.

Por tanto es urgente resolver los problemas relacionados con el acceso a la información, con los correspondientes problemas técnicos y legislativos, o estaremos negando la posibilidades que la ciencia y la tecnología nos ofrecen.

En el camino hacia el uso de la información genómica, el elemento inicial e imprescindible es disponer de sistemas informáticos para organizar la información y distribuirla. El ejemplo presentado en la sesión por Gregorio Gómez, director de Gestión Sanitaria de la Agencia Valenciana de Salud, fue el de la Comunidad Valenciana, donde las historias médicas están disponibles en todo el sistema de salud después de un considerable despliegue logístico y tecnológico. En estos momentos son los problemas de tipo burocrático los que dificultan su uso (por ejemplo, aunque los pacientes pueden acceder a sus historiales, necesitan una firma electrónica que es compleja de obtener, y ciertamente es más compleja que realizar operaciones bancarias en la red). En claro contraste, un número de compañías ofrecen en la red información genómica detallada sobre variantes genéticas individuales (en un sector que carece de una regulación clara y cuya fiabilidad es difícil de evaluar (<http://1.usa.gov/jQDHu>)).

Se trata de un tipo de situaciones para la que es importante preparar tanto a la población general como a los profesionales del sistema de salud que empiezan a enfrentarse a consultas derivadas de la información obtenida por este tipo de proveedores.

La problemática asociada con cómo almacenar, transmitir en la red y representar información genómica masiva fue descrita en la sesión el Dr. Orozco (IIB y Barcelona *Supercomputing Centre*), quien la puso en el contexto de los grandes proyectos que, en Biología y en otras áreas de las ciencias (por ejemplo Física de partículas, Meteorología o Geofísica) requieren entornos de computación masiva específicamente adaptados a sus necesidades específicas. Unas infraestructuras computacionales que, en el caso de la genómica, deben enmarcarse en el contexto del resto de los recursos científicos requeridos en este área, como son las grandes bases de datos de información biológica que, en Europa, se organizan en torno al proyecto de infraestructuras ELIXIR (www.elixir-europe.org/).

Cabe resaltar la importancia de organizar los esfuerzos nacionales en la utilización de la información médica y genómica en el contexto de las infraestructuras europeas y, en particular, del ELIXIR.

Para concluir, el Dr. Orozco hizo especial hincapié en la importancia de la formación de profesionales en las áreas de manejo de grandes cantidades de datos y bioinformática, imprescindibles para enfrentarse a la nueva y compleja avalancha de información genómica. Una necesidad de los profesionales es que debería llevarse a cabo pensando en cómo se va a realizar la gestión de este tipo de datos en los contextos clínicos dentro del sistema de salud. Un escenario en el que será importante la formación específica tanto en Genómica, como en los aspectos biológico/clínicos, incluyendo los aspectos legislativos y los normativos.

Estos y otros aspectos, relacionados con la formación de los profesionales, generaron un debate que refleja la importancia y la urgencia de este tema.

Finalmente, la sesión se centró en el contexto normativo en el que debe moverse el uso de la información. Jesús Rubí, adjunto al director de la Agencia Española de Protección de Datos, explicó la importancia del concepto de irreversibilidad de disociación entre la identidad del donante/paciente y sus datos, como clave en el tema de la privacidad de la información. Un concepto que debe interpretarse en cada contexto y completarse con la normativa adecuada para subsanar las deficiencias y reforzar los puntos débiles, en los que, en la práctica real, es difícil garantizar la disociación. Por ejemplo, en el caso concreto de los datos de los pacientes en los ensayos clínicos, se han creado medidas específicas que tutelan el proceso atendiendo a los detalles específicos alrededor de la persona responsable de monitorizar los ensayos para garantizar que, aunque dependa orgánicamente del laboratorio promotor del ensayo, mantenga su independencia en la custodia de los datos.

Uno de los puntos más interesantes de la reunión fue el darse cuenta del interés de la agencia por este tema, y la cierta sorpresa ocurrida al darnos cuenta de que, hasta ahora, la agencia no había sido consultada por ninguno de los actores académicos, industriales o del sistema sanitario.

Durante la reunión se discutió la organización de grupo de trabajo que estudiase este tema en colaboración con la agencia de protección de datos.

De un modo general, es gratificante darse cuenta de que esta reunión sirvió para exponer la compleja problemática asociada al manejo, la transferencia y la protección de los datos genómicos. Una identificación de problemas que es, sin duda, imprescindible como primer paso para poder solucionarlos.

SESIÓN 3. Interpretación biológica: desde los datos de secuenciación filtrados al informe

Moderador: Pablo Lapunzina
Panel: Javier Benítez, Juan Cruz Cigudosa, Joaquín Dopazo

Introducción

Hasta, aproximadamente, el año 2008 en la mayoría de los países del mundo desarrollado el flujo de información, desde la visita del paciente y la extracción de la muestra de sangre para un estudio genético de cierta complejidad, seguía un orden relativamente clásico, desde el clínico que solicita el estudio, pasando por los genetistas del laboratorio que lo realizan, hasta la emisión de un informe de laboratorio que llega al médico solicitante, que a la vez informa al paciente de los hallazgos.

Una de las cuestiones que nos preocupa con el advenimiento de las técnicas de secuenciación masiva es que el proceso normal del flujo de información pueda ser diferente con otros profesionales intervinientes y que, además, no finalice necesariamente en un informe concluyente para el paciente. El objetivo de esta mesa redonda es plantear algunas preguntas concretas que generan dificultad y dudas en todo este proceso, desde los datos de secuenciación al informe del paciente.

Las preguntas que se han puesto sobre la mesa de discusión del panel han sido las siguientes: ¿Cuál debería ser el proceso normal desde los datos filtrados hasta el informe escrito que se entrega al paciente? ¿Quién debería encargarse de validar los hallazgos de NGS antes de ser remitidos al clínico para que informe al paciente? ¿Se debería plantear la validación funcional en algunos pacientes en el nivel asistencial? ¿Es imprescindible contar siempre con muestras parentales para poder determinar la segregación? ¿Solo algunas veces o en algunas patologías? ¿Cuál sería su impacto en el coste de cada estudio? ¿Es válido trasladar al informe clínico las crecientes incertidumbres cuando los resultados no son categóricos o totalmente claros? ¿Cómo interpretaríamos en un informe una solicitud de exoma clínico en Medicina Prenatal? ¿Solo para fetos con marcadores ecográficos/bioquímicos o que sea válido para todos? Cuando los resultados de NGS no confirman el diagnóstico, ¿qué se debería hacer con el porcentaje pequeño de falta de cobertura en los paneles de genes? ¿Se incluye en el informe esta información y no se analiza o se analiza por Sanger?

Los contenidos abordados fueron:

- El informe para el clínico.
- Profesionales implicados: formación y cualificación.
- Elaboración de propuesta de genes causales.
- Estandarización de herramientas y procedimientos bioinformáticos para el almacenaje y el manejo del “interpretador”.

Conclusiones y recomendaciones

La primera cuestión que nos surge con el advenimiento de las técnicas de secuenciación masiva es que el proceso normal del flujo de información pueda ser diferente a lo que estamos acostumbrados.

En los sitios en los que existe un Servicio o Centro de Genética integral, este proceso de transición es relativamente sencillo. Sin embargo, en aquellos servicios clínicos, en los que no existe una experiencia importante de los clínicos en el manejo de la tecnología, se hace muy necesaria e imprescindible la intervención de un genetista con experiencia en el manejo de grandes datos genómicos.

La información que emana de los grandes secuenciadores con un número muy importante de datos puede tener las siguientes posibilidades

- Un diagnóstico claro que no deja dudas,
- un gran número de variantes que no terminan de aclarar totalmente el diagnóstico, requiriéndose de más estudios para poder confirmar el diagnóstico,
- o la ausencia de cambios que permitan un diagnóstico concreto y que permitan la emisión de un informe.

Es por ello que debe diferenciarse claramente la utilización de NGS en, al menos, tres diferentes niveles: paneles de secuenciación de genes específicos, exomas y genomas.

Hoy por hoy, la aplicación diagnóstica más directa y menos conflictiva, a la hora de emitir informes, es la utilización de paneles, ya que la aparición de variantes de significado desconocido es menor y el diagnóstico es mucho más dirigido.

Al utilizar exomas para el diagnóstico molecular de pacientes sin diagnóstico, se obliga al uso de un *pipeline* bioinformático que pueda depurar y analizar las variantes, y luego al de un filtrado clínico-genético que pueda dar cuerpo e interpretar los hallazgos desde una perspectiva más biológica y funcional, con una perspectiva clínica de los hallazgos. Finalmente, el proceso de laboratorio finalizaría con el método de validación por métodos tradicionales de los hallazgos obtenidos.

Así, partiendo de 25-30 mil variantes, finalmente podemos terminar con una docena de variantes que se deberían validar. Lo que está lastrando posiblemente la interpretación de todos los estudios es la falta de genetistas y de otros especialistas con formación en genética que sean capaces de poder iniciar el proceso con la solicitud de estudios específicos, sabiendo qué solicitar, qué esperar de los resultados y cómo interpretar los informes generados por los genetistas moleculares.

La otra cuestión que es importante analizar es quién debería validar los hallazgos surgidos de las técnicas de NGS y, a la vez, saber si se deben validar las variantes halladas con los análisis funcionales.

Este es un punto crítico de todo el proceso, ya que siempre, y por algún tiempo probablemente, se debería realizar la validación de estas variantes. La mayoría de los expertos opinan que las validaciones funcionales no se deberían realizar en el nivel asistencial; es decir, a nivel hospitalario. Cuando no se pueden validar un número importante de variantes (media de 50-80 variantes), el problema concreto es que el clínico se queda sin un informe final concreto para poder

trasladarlo al paciente y, consecuentemente, no existe un diagnóstico de confirmación. Este tema, a menudo, complica el asesoramiento genético del paciente. Cuando los resultados de las técnicas de NGS, por motivos técnicos, no cubren la totalidad de las regiones a analizar (entre un 5-10% según las tecnologías), a menudo es preciso recurrir a la utilización de las técnicas convencionales para terminar de analizar estas regiones que puedan tener relevancia. Dependerá de cuál sea el impacto de estas regiones en términos de porcentajes de mutaciones en esas regiones y la facilidad o no de su abordaje.

El otro aspecto relevante es la necesidad o no de contar con muestras parentales en las enfermedades de base genética para poder validar la segregación y mejorar el proceso de filtrado.

Este tema implica un incremento del coste diagnóstico por paciente y debe ser contemplado como tal. La mayoría de los expertos opinan que, en algunas ocasiones, es extremadamente útil y recomendable contar con muestras parentales para poder tomar una decisión en la emisión del informe.

En algunas otras tecnologías, tales como los estudios citogenéticos y/o los estudios de *microarrays*, estaría calculado y contemplado el porcentaje de muestras parentales que se necesita para poder emitir un informe con un propósito. Los informes de los resultados de tecnologías de NGS deberían tener información lo más sencilla posible, donde debería constar el proceso de análisis de resultados clínico-diagnóstico de los conocimientos aceptados. Un informe no debería exceder de una o dos páginas, pero luego podría tener un anexo donde se puedan aclarar o listar la información que se considere relevante actualmente o que pueda tener potencial relevancia para el futuro, que eventualmente puede incluir información que no necesariamente va a ser clínicamente útil, pero que puede ser de importancia debido a que, a la luz de los conocimientos actuales, tienen cierta incertidumbre.

Otro de los ítems relevantes es si es válido trasladar a un informe clínico, que recibirá el clínico y finalmente el paciente, las incertidumbres en los hallazgos genético moleculares.

En otras palabras, el informe inicial de un estudio de NGS, orientado al diagnóstico, tiene un alto grado de variantes que pueden producir incertidumbre, y los expertos actualmente no tienen totalmente claro si estas incertidumbres deben ser o no incorporadas al informe. Actualmente existe una iniciativa europea que pretende homogeneizar qué información mínima debe contener un informe de NGS.

La introducción de tecnologías de NGS tendrá, sin duda, una traslación en breve a la Medicina Prenatal y la transferencia al diagnóstico prenatal.

La aplicación de estas tecnologías abre la puerta a la necesidad de protocolizar esta indicación diagnóstica con la velocidad de mejora de las tecnologías y el abaratamiento de los test, y las agencias de evaluación de tecnológicas sanitarias y de diagnóstico deberán valorar su implementación en función de muchos otros factores que deben tenerse en cuenta. Es una prueba diagnóstica que, en manos de los profesionales adecuados, tiene una clara indicación diagnóstica, que implica finalmente llegar a un diagnóstico final, poder tomar una medida terapéutica que puede implicar la interrupción

de un embarazo donde lo permita la ley, y poder realizar un correcto asesoramiento a las parejas para futuros embarazos. Lo importante es tener en cuenta que la solicitud del estudio tiene que estar fundamentada por la indicación clínica, que debe ser clara y fundamentada por un especialista con la formación adecuada en el campo de la Medicina Prenatal.

El colegio de genetistas médicos de los Estados Unidos, dentro de sus recomendaciones, contempla que estas tecnologías puedan ser aplicadas a fetos si los test disponibles hasta ese momento no hubieran llegado a un diagnóstico.

SESIÓN 4. Aspectos legales y éticos de la información al paciente en la práctica clínica

Moderadora: Montserrat Baiget
Panel: Carmen Ayuso, Ignacio Blanco, Pilar Nicolás

Introducción

En las últimas décadas los estudios genéticos se han efectuado focalizados hacia una determinada patología o hacia una región concreta de nuestro genoma. Las cuestiones éticas asociadas a este tipo de estudios tienen que ver con: I) un consentimiento informado adecuado (CI); II) los aspectos de privacidad (tanto individual como de grupo); III) los aspectos relacionados con los seguros médicos; y IV) los aspectos relacionados con la discriminación según el estatus genético.

Hoy nos encontramos en el inicio de una nueva fase de los estudios genéticos que contemplan el genoma como un todo. La creciente disponibilidad de métodos para la secuenciación del genoma a precios asequibles facilita que un buen número de laboratorios hayan incorporado o vayan a incorporar estas metodologías. Las cuestiones éticas, que plantean los estudios genéticos clásicos, llamémosle dirigidos, se ven amplificadas tanto por el volumen como por el tipo de información generado por la secuenciación genómica. En consecuencia, los dilemas éticos asociados a la utilización de estas metodologías son muy complejos y los comités de ética institucionales se enfrentan a la resolución de problemas sin disponer de unas guías consensuadas sobre cómo abordar estas cuestiones.

Hay, por lo menos, tres áreas específicas que necesitan una valoración ética urgente:

1. **La limitaciones del consentimiento informado actual.** Se trataría de llegar a un compromiso entre los deseos del investigador (consentimiento muy amplio y mejor cuanto más abierto) y los del paciente (perfectamente informado de cómo quiere participar en el estudio). Un aspecto de vital importancia es establecer cuándo se dispone de las muestras biológicas almacenadas, en qué circunstancias un CI para estudios genéticos dirigidos (clásicos) puede ser válido o cuándo se requiere un consentimiento.
2. **El manejo de los hallazgos accidentales en la secuenciación del genoma.** La obligación ética de comunicar este tipo de resultados es un tema sin resolver. No existe consenso en la literatura ética: hay unos autores a favor y otros en contra. La situación es similar desde el punto de vista legal; el problema no está resuelto. Está en marcha un estudio en el que se pregunta a los miembros de los comités institucionales su opinión sobre el manejo de estos hallazgos accidentales en el contexto de una secuenciación del genoma: cómo y en qué circunstancias deben comunicarse los hallazgos y, naturalmente, los razonamientos que fundamentan sus opiniones.
3. **La secuenciación del exoma o del genoma en el contexto de un diagnóstico prenatal.** Aunque se ha valorado muy poco este tema, se ha postulado el hecho de que se podría privar al feto de su derecho, en el futuro, de no querer conocer su información genética. En el caso de los estudios en niños, esta autonomía se preserva pero, por el momento, no ocurre lo mismo en el contexto prenatal.

Conclusiones y recomendaciones

Para un consentimiento informado de análisis de genoma completo

- Recordar que un CI no es únicamente un documento; es un proceso.
- Un CI de un estudio de secuenciación genómica debe contemplar (además del contenido que se utiliza en estudios clásicos) que el paciente conozca que se trata de un análisis de todo su genoma y no de un estudio dirigido a un gen o a una enfermedad determinada.
- Debería establecerse *a priori*, de forma genérica, qué tipo de información va a recibir el paciente al final del estudio.

Para una información más detallada de este apartado, consúltese: “Informed consent for whole-genome sequencing studies in the clinical setting. Proposed recommendations on essential content and process”. Ayuso C, Millán JM, Mancheño M, Dal-Ré R. Eur J Hum Genet 2013 Jan 16. doi: .1038 /ejhg. 2012. 297. [Epub ahead of print].

Sobre el manejo de los hallazgos accidentales en la secuenciación del genoma

Los hallazgos inesperados pueden clasificarse en: I) aquellos que tienen “accionabilidad”; es decir, aquellos que permitan tomar decisiones relevantes para la salud del paciente; II) aquellos cuyo significado es irrelevante para la salud; y III) aquellos cuyo significado es desconocido en el momento de informar al paciente. La ley vigente que regula estos aspectos reconoce el derecho del paciente tanto a saber como a no saber. En consecuencia, la comunicación al paciente de los hallazgos accidentales en el estudio genómico dependerá de la decisión del paciente. Independientemente de dicha decisión, cuando el facultativo identifique la existencia de un hallazgo relevante para la salud del paciente o de sus familiares, podrá: I) informar al paciente si este ha manifestado su voluntad de saber; o II) informar a algún familiar si el paciente manifestó su voluntad de no saber.

Sobre la secuenciación del exoma o del genoma en el contexto de un diagnóstico prenatal

- La ley actual prevé expresamente que los principios que se aplican a los menores son aplicables a los embriones y a los fetos. En la regulación de los análisis se engloba al feto (que no tiene personalidad jurídica) en el grupo de aquellos que “no pueden consentir” y se requiere que haya una indicación clara y que el análisis siempre esté hecho en su beneficio.
- El *American College of Medical Genetics and Genomics* señala en sus recomendaciones sobre la aplicación clínica de la secuenciación genómica (May 15, 2012) que: “La secuenciación del genoma ni la del exoma debe ser utilizada, actualmente, como una estrategia de estudio prenatal”.

SESIÓN 5A. Aplicaciones y perspectivas en enfermedades hereditarias/raras

Moderador: Francesc Palau
Panel: Guillermo Antiñolo, Ángel Carracedo, Luis Pérez Jurado

Introducción

Con el término Medicina Personalizada se pretende abordar la cuestión de la traslación a la historia de salud y el estatus clínico de la persona su individualidad biológica única y el efecto que esta tiene en la interacción con el medio ambiente del propio individuo. En el marco de la Medicina Personalizada prevemos la integración completa del perfil biológico, basado en gran medida en la información ómica; esto es, los aspectos genéticos, genómicos, transcriptómicos, metabolómicos y proteómicos tanto en situación de salud como en situaciones clínicas (fenotipos de enfermedad) y según el medio ambiente (incluyendo nutricional) en una persona en particular. La principal consecuencia que cabe esperar es poder optimizar las estrategias preventivas de atención sanitaria y la respuesta a las terapias con fármacos, bien sea en la vida sana de la persona, bien en las fases tempranas de la enfermedad. La Medicina Personalizada trata de trasladar la evidencia clínica y científica de que disponemos actualmente, basada en los estudios poblacionales (series de pacientes) de las intervenciones médicas, hacia su aplicación en el manejo de la persona específica basado en su perfil biológico, su historia clínica y su interacción con el medio ambiente. El objetivo es ofrecer una atención médica adaptada a cada persona. Podemos decir que la Medicina Personalizada, basada en la integración de la información individual, la variación del genoma, la fisiología y la respuesta celular, integrado todo ello en el entorno personal, puede representar un modelo proactivo, preventivo y prospectivo de la atención de la salud.

Los fundamentos de la Medicina Genómica y personalizada y las nuevas tecnologías, que permiten definir perfiles biológicos personales, se aplican a cada tipo de proceso patológico, enfermedad o afección, sea cual sea el principal órgano o tejido involucrado en el trastorno que afecta a la persona. La Medicina Personalizada maneja una serie de elementos que son relevantes para cualquier tipo de enfermedad. Tales elementos se deben tener en cuenta cuando estamos pensando en un modelo prospectivo de la atención sanitaria y en la generación de marcadores predictivos. Estos provienen de la investigación básica y del desarrollo de tecnologías ómicas, de la investigación traslacional, de la caracterización de biomarcadores y de la aplicación de nuevos instrumentos de traslación clínica, teniendo siempre en cuenta el impacto social y ético. Sin embargo, el impacto de la Medicina Personalizada no ha sido idéntico en todas las áreas clínicas. Tradicionalmente, la Medicina Personalizada viene teniendo relevancia en Oncología y en las enfermedades comunes de otras disciplinas médicas, tales como los trastornos cardiovasculares, la diabetes, el síndrome metabólico y las enfermedades neurodegenerativas. No obstante, en los últimos años también las enfermedades raras (ER) se han convertido en un importante campo de interés para la investigación traslacional y la aplicación del enfoque de la Medicina Personalizada a los pacientes individuales.

Conclusiones y recomendaciones

Según estas premisas y realidades, se planteó una mesa redonda sobre el papel de la Medicina Personalizada en el ámbito de las enfermedades raras. La discusión de la mesa se centró en cuatro cuestiones que se indican a continuación y sobre las que se presentan las conclusiones más importantes tras el enunciado de cada una de ellas:

Desde los años 80 del pasado siglo, las enfermedades monogénicas han sido el objeto de interés de la aplicación clínica de la secuenciación Sanger de los genes asociados a las mismas. En este contexto, ¿cuál es la situación actual y qué perspectiva se vislumbra para la secuenciación masiva (Next Generation Sequencing o NGS) en el diagnóstico de las enfermedades genéticas raras?

Hay consenso en que las enfermedades raras genéticas constituyen un modelo de aplicación del diagnóstico basado en la NGS, modelo que ya está en funcionamiento y aplicándose en muchos países y en los servicios de genética de España. Las ER serían, tal vez, el paradigma del diagnóstico genético con secuenciación masiva, junto con otro campo de gran interés, como es el de las enfermedades genéticas somáticas (por ej.: el cáncer) con el objetivo de mejorar la capacidad en la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas. En este momento se está trabajando principalmente en el estudio del exoma, bien sea en el marco de paneles de genes, bien el contexto del exoma completo. Se plantean dos cuestiones: (I) la aplicación de paneles, cuya indicación sería para aquellas enfermedades de gran heterogeneidad genética con muchos genes conocidos asociados al fenotipo clínico, y (II) indicación de exoma completo para el diagnóstico, pero siendo consciente de que ofrece la ventaja de disponer de información genómica adicional que puede ser útil en el plano diagnóstico, pero sobre todo para mejorar las capacidades de la investigación sobre estas enfermedades. Hay un consenso que apoya que, conforme sea más coste-efectivo, el análisis del exoma sustituya al estudio de los paneles de genes. Respecto a esto, cabe indicar que, en el futuro, no será ya el análisis el conjunto de las regiones codificantes de los genes anotados, sino del genoma entero la fuente de información de las variaciones genéticas del individuo.

Uno de los problemas con los que nos estamos encontrando, en los estudios de exomas —y será mayor cuando la rutina sea el análisis del genoma—, es la detección de un número amplio de variantes genéticas de significado incierto. Una de las estrategias para resolver u orientar esta cuestión es disponer de bases de datos sobre enfermedades y también globales con capacidad de aplicar el conocimiento que, día a día, se va generando a la aplicación concreta de las variantes genómicas (varioma) que se encuentran en una persona determinada tras la secuenciación de su exoma o de su genoma.

Es importante tener en cuenta que la tecnología nos ayuda a generar conocimiento, pero es este el que nos permite realmente solucionar los problemas, en concreto, aquellos que se enmarcan en el proceso clínico. Es importante, pues, que incorporemos los conceptos de validez analítica, validez clínica y utilidad clínica a la práctica y aplicación médicas de las tecnologías de secuenciación masiva y a los diagnósticos genéticos basados en ellas. Es resumen, hay que incorporar esta información y estos procesos al plano de la gestión de los servicios sanitarios y del manejo de la salud del individuo. Conviene, además, no olvidar aspectos fundamentales para la aplicación de la NGS al diagnóstico de las ER genéticas, como son la calidad de las muestras biológicas (por ej.: calidad del ADN) y la importancia de trabajar en equipo (clínicos, genetistas, bioinformáticos). En última instancia, interesa resolver el problema de los pacientes sin diagnóstico y la NGS nos está ofreciendo la oportunidad de abordar esta cuestión no solo por el hecho de que nos ayude al diagnóstico genético, sino también porque nos permite la reasignación de fenotipos asociados a enfermedad por el hallazgo de la mutación en un gen que habitualmente condiciona una enfermedad que se enmarca en una categoría nosológica diferente dentro de la clasificación actual de las patologías humanas.

¿Qué aproximación se debe seguir; paneles de genes asociados al fenotipo clínico versus secuenciación de exomas y extracción de la información requerida/solicitada por el médico? ¿Qué hacemos con la información global detectada sobre la variación genética del individuo generada por la NGS? En este momento, ¿hay lugar para la secuenciación del genoma?

La aproximación a aplicar exomas o paneles de genes es variable y dependiente de la situación clínica y del coste/beneficio que suponga. Un factor importante es el conocimiento de que ya se ha generado sobre la genética subyacente a un fenotipo clínico o a un conjunto de enfermedades relacionadas que comparten características fenotípicas. La aplicación de paneles o de exomas está condicionada por el coste del exoma, aunque este está cambiando a la baja y es posible que esta discusión no tenga sentido en un breve tiempo. Cabe indicar varias cuestiones relevantes para el momento presente:

1. La visión de panel/exoma (y por qué no, el genoma completo) como un *continuum* del análisis genético del individuo, donde el panel de genes ofrece la ventaja de adaptar el estudio genético a un marco clínico del consentimiento informado, mientras que el exoma permite disponer de una mayor información genética y genómica, generando colecciones (bases de datos) de la variabilidad genética de la población que es muy útil para el diagnóstico y para contrastar si un cambio en la secuencia puede representar o no un cambio funcional que se asocie a la etiopatogenia de la enfermedad; el exoma ofrece mucha información y una disociación, al menos parcial, entre genotipo y fenotipo, de modo que permite encontrar cambios en un gen no relacionado previamente con la enfermedad en cuestión y, con ello, alcanzar un diagnóstico que no hubiera sido posible de otra manera. No obstante, conviene no olvidar que la apuesta por los paneles no se reduce a cómo están estos diseñados en la actualidad, sino que son expandibles y su versatilidad los hace incluso de gran interés para el diagnóstico genético. Un punto muy importante es destacar que la tecnología NGS ofrece ya el incremento, probablemente en un orden de magnitud, de la capacidad de encontrar el cambio genético asociado a la causa de la enfermedad monogénica. Finalmente, conviene no olvidarse de que lo comentado para el estudio de exomas es aplicable al estudio del genoma, con una mayor información de la variación genética del individuo, aunque con mayor dificultad para interpretar la posible función de las variantes encontradas tras la secuenciación del ADN.
2. Este *continuum* hay que enmarcarlo en el proceso ya mencionado de validación y de utilidad clínicas; esto es, en el proceso de toma de decisiones que pueda cambiar el curso del proceso clínico médico-paciente y que este pueda tener un carácter fundamentalmente proactivo.
3. Para llevar a buen puerto el uso y la aplicación adecuados en cada momento del *continuum* del análisis genómico mediante NGS, cabe resaltar los factores determinantes, como son la tecnología, con su mejora siempre cambiante y el abaratamiento para el sistema de salud, pero haciendo hincapié la formación continuada de los diferentes responsables, médicos especialistas, bioinformáticos, pero sobre todo en la formación de genetistas clínicos y asesores genéticos que actúen en la interfaz entre el conocedor de la información del genoma y los usuarios finales de tal información, los médicos y los pacientes.

Secuenciación NGS in situ en los hospitales o centros de secuenciación y análisis de secuencias (paneles, exomas, genomas) en estrecha relación con los servicios/unidades de genética, ¿qué puede ser más operativos y con mejor relación coste/beneficio? ¿Qué ventajas y desventajas ofrece cada modelo? ¿Tal vez un modelo mixto?, y conjuntamente con la siguiente pregunta, ¿cómo se pueden incardinar los hallazgos experimentales de proyectos de NGS en la práctica clínica? ¿Cuál es la información a manejar en el marco clínico de la relación médico-paciente? ¿Cómo se articulan los hallazgos de un análisis NGS con el consejo genético y qué papel juega el bioinformático clínico junto con el genetista clínico y el asesor genético?

La cuestión se plantea en términos del desarrollo —muy rápido— de la tecnología y del uso de la información generada en el marco clínico, a modo de una interacción continua. Es muy importante que mejoremos la capacidad de análisis y de gestión de la información. Esta gestión adecuada ha de incardinarse con el sistema de salud y la tipología de los centros hospitalarios y los servicios de genética. La disponibilidad de tecnología NGS en los servicios de genética permite no solo utilizarla para el diagnóstico, sino también para la formación de los genetistas y de bioinformáticos; esto es, especialistas del genoma, en una interacción muy productiva que sea de utilidad para el médico clínico. De nuevo, no obstante, surge el problema del coste/beneficio y de las posibilidades de adaptación tecnológica de los servicios, especialmente aquellos que son de tamaño pequeño o mediano. Tal vez el camino a seguir, donde podemos encontrar la respuesta adecuada, sea la ordenación racional de los servicios de genética junto con los centros de genotipado y de secuenciación genómica de referencia, algunos ya existentes y otros pocos por empezar su andadura. La respuesta ha de estar, tal vez, en realizar un esfuerzo por mejorar el ordenamiento de los servicios y la oferta de cada uno de ellos en una estructura en red, con nodos clínicos en los hospitales (servicios/unidades de genética clínica) y centros de análisis genómico integrados en la red hospitalaria, con una alta capacidad de análisis y de interacción científica y clínica con los usuarios.

SESIÓN 5B. Aplicaciones y perspectivas en el cáncer

Moderador: Francisco X. Real
Panel: Juan C. Cigudosa, José Vicente Cervera, Miguel Ángel Piris

Introducción

La aplicación de la secuenciación masiva en el ámbito oncológico presenta algunas particularidades en relación con otras áreas de la Medicina Genómica. La primera es que con frecuencia es necesario secuenciar una muestra tumoral para compararla con una muestra de tejido normal (con el objetivo de identificar las variantes somáticas); la segunda es que el objetivo principal no es tanto el diagnóstico (que sigue siendo anátomo-patológico) como servir de guía para la selección del tratamiento. Otro elemento importante relacionado con la naturaleza de la enfermedad es que la selección de la muestra y la profundidad de la secuenciación tienen un impacto mucho mayor en Oncología. Lesiones neoplásicas distintas de un mismo paciente (i. e. tumor primario y metástasis, ya sean sincronas o metácronas) difieren desde el punto de vista genético/genómico, lo que puede ser importante a la hora de seleccionar la muestra.

Una de las principales características de los tumores es que distorsionan la arquitectura del tejido normal, por lo que diferentes muestras tendrán una celularidad tumoral distinta. Además, los tumores presentan una notable heterogeneidad genética por lo que no todas las mutaciones están presentes en la totalidad de las células tumorales. Estas dos circunstancias recomiendan una mayor profundidad de secuenciación que cuando se detectan variantes en la línea germinal que, en general, estarán presentes al menos en un 50% de los alelos.

Un elemento que añade un nivel de complejidad adicional a los análisis genéticos de los tumores es que una proporción importante de las variantes somáticas no son realmente relevantes para el proceso neoplásico, ya sea porque se acumularon en la célula antes del desarrollo del tumor o porque aparecieron como consecuencia de la mayor proliferación y/o tasa de errores presente en las células tumorales. Estas mutaciones “pasajeras” deben distinguirse de las mutaciones “driver” que son las que participan de forma causal en el desarrollo del tumor y que son el objetivo de las terapias dirigidas.

Desde el punto de vista técnico, se plantean dos estrategias principales: la secuenciación dirigida a genes conocidos que participan en el desarrollo de tumores y para los cuales pueden existir terapias dirigidas (“paneles” de genes, habitualmente) o la secuenciación del exoma completo, que permitiría identificar variantes en esos mismos genes, pero que también aporta un elemento, al menos en la actualidad, de “descubrimiento” de nuevas mutaciones. La secuenciación dirigida selectivamente a unos pocos genes tiene, en general, un coste menor, requiere de un análisis bioinformático menos complejo y se centra en las proteínas que se conocen mejor desde el punto de vista estructural y funcional. La secuenciación de los exomas presenta un nivel de complejidad mayor, no tanto en los procedimientos experimentales como en el análisis bioinformático de los datos. Este último, con las herramientas actuales, requiere un tiempo mayor, debe ser realizado por expertos y tiene un coste más elevado. Algunos ensayos “piloto” recientes demuestran que todo el proceso de secuenciación de exomas puede optimizarse para proporcionar resultados aplicables en el entorno clínico para la toma de decisiones terapéuticas, al menos, en los centros especializados. La evolución en este área es muy rápida y no está claro aún cuál será el modelo organizativo óptimo que haga más eficiente el proceso de secuenciación, de análisis de los datos y de toma de decisiones terapéuticas.

Conclusiones y recomendaciones

- Actualmente, las principales aplicaciones de la tecnología de secuenciación masiva en el área oncológica, para la detección de mutaciones somáticas, se basarían en la utilización de paneles de genes/mutaciones que pueden guiar el tratamiento.
- El potencial de la secuenciación de exomas es enorme, pero presenta todavía retos considerables en el entorno clínico convencional; entre ellos, la disponibilidad de la tecnología, el análisis bioinformático de los datos, la fiabilidad de los datos de secuenciación y la necesidad de su verificación por técnicas independientes antes de la toma de decisiones clínicamente relevantes y el precio.
- En entornos de investigación clínica, la secuenciación de exomas está siendo analizada y pronto se dispondrá de información acerca de su utilidad como “compañera” en la toma de decisiones clínicas.
- La muy rápida evolución de la tecnología y la reducción excepcionalmente rápida de los precios de la secuenciación de exomas pueden ser factores que contribuyan a la más rápida implantación de esta estrategia en el entorno clínico (incluso si de todos los datos de secuenciación de exomas se “utiliza” o interpreta solo una fracción de ellos centrada en los genes de interés terapéutico).
- La rápida evolución de la tecnología también genera dudas acerca de las estrategias de organización en el sistema sanitario. Es fácil imaginar que, en un futuro próximo, los secuenciadores de sobremesa estarán instalados en los Servicios de Anatomía Patológica asistiendo al diagnóstico histológico.
- Para los tumores más frecuentes, es previsible que el crecimiento del conocimiento será rápido y que la industria farmacéutica trabajará estrechamente con los hospitales y los centros académicos para identificar los mejores predictores de respuesta terapéutica. Para los tumores menos frecuentes (o incluso raros), la secuenciación dirigida a genes cuyas alteraciones definan decisiones terapéuticas (en tumores frecuentes) abrirá nuevas oportunidades en el entorno clínico.
- La complejidad biológica del cáncer hace prever que los “comités de tumores” incluyan biólogos moleculares y/o computacionales cuya experiencia y conocimiento deba ser incorporada a las discusiones sobre las decisiones terapéuticas.
- La gran variabilidad genética de los tumores (a nivel interindividual y dentro de un individuo) es un elemento adicional de complejidad que deberá ser tenido en cuenta en los análisis retrospectivos y en los metaanálisis de datos clínico-moleculares.
- La gran diversidad genética de los tumores hace necesaria la investigación sobre los modelos óptimos de realización de ensayos clínicos, con el fin de optimizarlos para obtener la mayor información posible tanto al nivel prospectivo como retrospectivo.
- Una pieza clave, en el proceso de la aplicación de las nuevas herramientas genómicas al manejo del paciente con cáncer, es la disponibilidad de tejido neoplásico no solo para la identificación de los factores predictores de la sensibilidad terapéutica, sino también para la identificación de factores de adquisición de resistencia a los tratamientos convencionales o dirigidos.

- La disponibilidad de información sobre el genoma de la línea germinal ha de permitir incorporarla a la selección terapéutica (farmacogenómica). Esta es un área de potencial crecimiento rápido en Oncología.
- Uno de los mayores retos es el manejo de la información genómica, desde diferentes perspectivas. En primer lugar, a nivel técnico, en cuanto al almacenamiento de los datos. En segundo lugar, en cuanto a la disponibilidad en el entorno clínico. En tercer lugar, en relación con la formación de los médicos para su utilización óptima. Y finalmente, en relación con las exigencias de confidencialidad necesarias para proteger a los pacientes de forma adecuada. Nuestro sistema de salud no está preparado para estos retos y los médicos tampoco lo están, por lo que la formación en estas áreas presenta importantes retos (y oportunidades).
- La creación de consorcios que compartan recursos e información así como la colaboración estrecha de oncohematólogos, anatomopatólogos, biólogos moleculares, biólogos computacionales y estadísticos/epidemiólogos clínicos será esencial para facilitar el avance del conocimiento.
- La cooperación entre las instituciones de investigación, los hospitales y la industria farmacéutica es la base para una mejor aplicación de este conocimiento en el beneficio del paciente.

Bibliografía

- Roychowdhury S, Iyer MK, Robinson DR, *et al*. Personalized oncology through integrative high-throughput sequencing: a pilot study. Sci Transl Med 2011; 3: 111ra121.
- Valencia A, Hidalgo M. Getting personalized cancer genome analysis into the clinic: the challenges in bioinformatics. Genome Med 2012; 4: 61.

SESIÓN 6. Incorporación e impacto en el SNS. Retos para la evaluación, planificación y asistencia sanitaria

Moderador: Iñaki Gutiérrez
Panel: Josep M.ª Borrás, Antonio Martínez, Gregorio Gordo

Introducción

De la investigación a la práctica, los sistemas establecen una serie de marcos que les ayudarán a decidir dónde invertir y cuáles son las garantías para asegurar la seguridad y la calidad de los productos que están en desarrollo (marco de I+D), que van a entrar en el mercado (marco regulatorio) o que deben ser incorporados a la provisión por los servicios privados o públicos (marco de provisión y reembolso). Cada uno de ellos implica el establecimiento de una barrera, límite, obstáculo o garantía (dependiendo de quién las está considerando) que asegure que sean respetados los intereses de los ciudadanos y/o de los pacientes. Los sistemas de salud no son diferentes de otros sistemas y así establecen marcos para la investigación, regulación y prestación con diferencias entre regiones, países y continentes (Figura 1). Sin embargo, existen normas aceptadas o mejores prácticas en todo el mundo que proporcionan elementos transparentes, imparciales, submarcos robustos, fiables y que permiten la rendición de cuentas para cada una de las garantías mencionadas en la investigación, la regulación y la provisión.

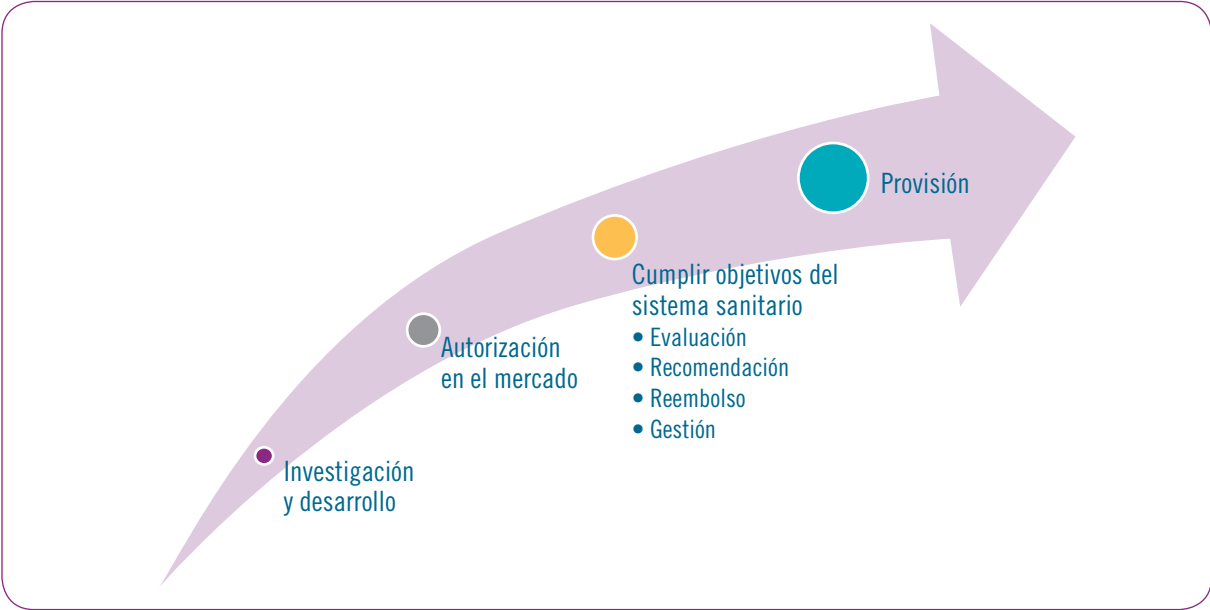


Figura 1. Desde la investigación a la provisión de servicios (modificado de Rogowsky *et al.* 2008).

Conclusiones y recomendaciones

Incorporación de la secuenciación genómica a la práctica habitual

Una de las cuestiones que quedan sin resolver es cómo discernir qué debe circunscribirse al ámbito de investigación aplicada y qué se debe considerar práctica habitual. De este modo, los marcos regulatorios no ayudan porque únicamente establecen criterios que delimitan qué puede ser introducido en el mercado y no qué puede ser generalizado o generalizable como práctica clínica habitual. Podríamos utilizar la frase célebre del catedrático Martin Buxton de la Universidad Brunel de Londres y reconocida en el mundo de la Evaluación de Tecnologías Sanitarias como la “ley de Buxton”, en ella se dice que: “Es siempre temprano para evaluar una tecnología... hasta que de repente es demasiado tarde”.

Algo similar nos puede suceder con la secuenciación genómica y la información evaluativa para su incorporación en los sistemas sanitarios. Parece ser todavía temprano evaluar y/o recomendar su incorporación de manera general a los sistemas sanitarios, sin embargo, la tecnología se está incorporando de manera paulatina en los sistemas y debe ser evaluada como tal por sus múltiples implicaciones (médicas, organizativas, éticas, legales y sociales), algunas de las cuales se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Implicaciones MELS (médicas, éticas, legales y sociales) de la introducción de la secuenciación genómica en los sistemas de salud (Gutiérrez-Ibarluzea, 2012).

Implicaciones médicas	Implicaciones éticas
Incrementa la efectividad ¿Cambia el paradigma de ECA? Resultados surrogados (tecnologías diagnósticas) Oportunidad para medidas preventivas Necesidad de combinación - Clínica - Medio-ambiental - Genómica	Cambio en el concepto salud-enfermedad (predicción) Conocimiento suficiente que justifique la secuenciación poblacional Propiedad de la información (no solo genómica) Conocimiento y rol de los pacientes Dignidad humana. Estigmatización y discriminación Accesibilidad Integridad humana, convicciones morales, preferencias y deberes, incluido el derecho a no ser analizado
Implicaciones legales	Implicaciones sociales
Autonomía de los pacientes Credibilidad legal Protección de la información generada Guías éticas profesionales Falta de armonización de sistemas y regulaciones Barreras legales relacionadas con las políticas de reembolso y precios Marketing Armonización de los servicios Conceptos erróneos y falsas expectativas Prácticas ilegales	Empoderamiento y autonomía de pacientes y familiares Estigmatización de algunas subpoblaciones de acuerdo a sus datos clínicos, estilos de vida y genéticos La tecnología actual permite la internacionalización de los datos Políticas para promover la implementación de servicios de salud personalizados Incorporar a personas y grupos, apoyo requerido y costes incurridos Análisis de opiniones (cualitativa y cuantitativa)

Sobre qué bases implementar la secuenciación en los servicios sanitarios

La incorporación se puede realizar de manera paulatina asentándose en criterios de efectividad, eficiencia y manejo diferencial, mientras se siguen estableciendo diferencias entre lo que se considera investigación y lo que se considera provisión o prestación sanitaria. En este sentido, el Sistema Nacional de Salud español ha sido paradigmático en el establecimiento de modelos metodológicos racionales para la incorporación de las tecnologías sanitarias (entendidas como conocimiento aplicado) en la práctica clínica habitual. En el caso de la Genómica y coordinado por la Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, se elaboró, sobre la base de un gran consenso multidisciplinar, la Guía GEN para la incorporación de nuevas tecnologías genéticas. Igualmente han sido ejemplos a seguir los Planes de Genética de Andalucía y el País Vasco que pretenden elevar la racionalidad como criterio de incorporación de prestaciones y minimizar los impactos en la organización de servicios, producidos por una implantación de las nuevas tecnologías sin criterio establecido.

Igualmente, en el área de cáncer, la agencia catalana de evaluación de tecnologías sanitarias elaboró la Oncoguía de consejo genético en el cáncer hereditario, ya que no es únicamente la incorporación de nuevas pruebas sino la modificación que suponen estas en la prestación de servicios y los roles que los distintos profesionales y ciudadanía deben tomar.

Diferentes expertos admiten que la incorporación de estas tecnologías sanitarias en la práctica supondrá una reorganización de las mismas. Esto no quiere decir que tal y como reclaman algunos autores la implementación de la secuenciación y sus implicaciones puedan hacer que la provisión sea menos costosa (Becla *et al.*, 2011). Aún y con todo, la provisión puede ser más eficiente teniendo en cuenta los resultados en salud (incremento en el numerador), siempre y cuando se realice sobre la base de una evidencia de calidad y no sobre criterios consensuados y no refrendados por la investigación en servicios de salud. El coste-efectividad, igualmente, no tiene por qué ser más que un elemento de información importante, entre otros, para la decisión y el impacto presupuestario a medio plazo, como parte inherente de la misma. Entre otras cuestiones a plantearse, además de las antes mencionadas para la toma de decisiones, al igual que en otras tecnologías, consideraríamos la equidad, la eficacia, el marco legal en el que se va a implementar (máxime cuando en el caso de la secuenciación, la información individual y sus consecuencias sociales juega un papel tan relevante), la aceptación individual y social, las consecuencias éticas y organizativas que van a suponer un reto no solo para la evaluación, sino para los propios sistemas sanitarios.

En cuanto a la incorporación a los marcos regulatorios de biomarcadores, incluida la secuenciación para la aprobación de la indicación de fármacos, esto dependerá nuevamente de la capacidad de generación de evidencia que soporte estas modificaciones con suficiente certidumbre. No parece que se pueda plantear, al menos a medio plazo, la aprobación para la entrada en mercado de fármacos sobre la base de ensayos virtuales sobre pacientes. Sin embargo, algunos ejercicios de prospección tecnológica, como el efectuado por la *European Science Foundation* en el 2012, apuntan que estos avances pueden ser posibles a medio o largo plazo.

Por último, pero no menos importante, debemos tener en cuenta que la garantía de calidad de la prestación de la asistencia sanitaria incluye la forma en la que la prestación de servicios se realiza (cuestiones de organización), por quién (la creación de capacidades y los aspectos de acreditación) y cuál es el conocimiento sobre el proceso y sus consecuencias por parte de los profesionales y la ciudadanía. Por lo tanto, la evolución actual de la secuenciación genómica y las tecnologías de información requerirán profesionales acreditados, ciudadanía bien informada y la reorganización de los servicios de salud tal como se les conoce hoy en día (Gutiérrez-Ibarluzea, 2012). Para ello será necesario el empoderamiento de la ciudadanía y de los profesionales de la salud y se multiplicarán los requisitos de las decisiones de acciones a nivel individual y poblacional.

Bibliografía

- Agencia de Avaluació de Technologies i Recerca Mediques. OncoGuía del consejo y asesoramiento genéticos en el cáncer hereditario. 2006. <http://www.gencat.cat/salut/depsan/units/aatrm/pdf/og0601esex.pdf>.
- Becla L, Lunshof JE, Gurwitz D, *et al.* Health technology assessment in the era of personalized health care. *Int J Technol Assess Health Care* 2011; 27 (2): 118-26.
- ESF. Personalised Medicine for the European citizen. 2012. <http://www.esf.org/activities/forward-looks/medical-sciences-emrc/current-forward-looks-in-medical-sciences/personalised-medicine-for-the-european-citizen.html>.
- Grupo de trabajo para el desarrollo de la genética en la CAPV. Plan para el desarrollo de la genética en la Comunidad Autónoma del País Vasco. Vitoria-Gasteiz. Departamento de Sanidad, Gobierno Vasco, 2011; http://www9.euskadi.net/sanidad/osteba/datos/E_12_05_PLAN%20DE%20GENETICA.pdf.
- Gutiérrez-Ibarluzea I, Personalised Health Care, the need for reassessment. A HTA perspective far beyond cost-effectiveness. *Italian Journal of Public Health* 2012; 9: 4 <http://ijphjournal.it/article/view/8653/7791>.
- Márquez-Calderón S, et al. Guide for decision-making on the introduction of genetic tests in the National Health System (GEN guide) Version 1. 2006. http://www.juntadeandalucia.es/salud/servicios/contenidos/nuevaaetsa/up/AETSA_2006-04_GEN_eng.pdf.
- Plan de genética de Andalucía. Junta de Andalucía. 2008. <http://www.juntadeandalucia.es/fundacionprogresoysalud/medias/File/PlanGeneticadeAndalucia.pdf>.
- Rogowski WH, Hartz SC, John JH. Clearing up the hazy road from bench to bedside: a framework for integrating the fourth hurdle into translational medicine. *BMC Health Serv Res* 2008; 8: 194.

