

Acta Médica

Grupo Ángeles

Volumen
Volume **2**

Número
Number **2**

Abril-Junio
April-June **2004**

Artículo:

Los microarreglos de DNA y su aplicación clínica

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Grupo Ángeles Servicios de Salud

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Edigraphic.com



Los microarreglos de DNA y su aplicación clínica

Luis Benítez Bribiesca*

El formidable avance que ha experimentado la genética molecular en los últimos 25 años, ha permitido descifrar mecanismos fundamentales de la acción de los genes y la codificación de los mismos, tanto para procesos fisiológicos, como para condiciones patológicas. El descubrimiento de los oncogenes y antioncogenes representa uno de los mejores ejemplos que ya encuentran una aplicación clínica definida, particularmente en el campo de la oncología. Pero indudablemente la descodificación del genoma humano hace un par de años, fue uno de los logros científicos más trascendentales de nuestra época y con ello se ha abierto la puerta para el entendimiento más fino del papel que desempeña la codificación genética en todos los procesos celulares, tanto en la salud como en la enfermedad. Simultáneamente se han desarrollado técnicas cada vez más precisas y finas que han permitido hurgar hasta lo más recóndito de estas moléculas para entender mejor los complicados procesos de expresión y regulación del genoma. Aunque estas refinadas técnicas habían sido del reducto de los laboratorios de investigación en el campo de la biología molecular y sus resultados eran usados principalmente por los investigadores de esta disciplina, rápidamente muchos de ellos han encontrado ya aplicaciones en la clínica. La determinación de las alteraciones de algunos genes particulares permite su uso en la clínica como marcadores específicos de algún trastorno patológico como por ejemplo en los cánceres, en procesos inmunes, en infecciones virales y bacterianas e inclusive en síndromes hereditarios.

No hace mucho tiempo que el estudio de un solo marcador molecular como por ejemplo el gen N-myc y su amplificación era tomado como un índice pronóstico en algunos cánceres. Lo mismo ocurre con el gen HER 2-Neu en el caso de cáncer de mama o lo que se sabe de la alteración de ciertos genes en síndromes hereditarios como la ataxia telangiectasia, o en los síndromes de cáncer hereditario de colon como el gen APC o en los cánceres familiares de mama con los genes BRCA. Estos son claros ejemplos de lo que el estudio de las alteraciones de genes aislados puede aportar para la clínica.¹ Sin embargo, en los últimos años ha aparecido una técnica novedosa que permite estudiar la expresión de grandes grupos de genes, lo que se ha bautizado con el nombre de microarreglos de DNA. Esta técnica, desarrollada desde 1995 también se encontraba limitada al reducto exclusivo de los laboratorios de investigación genómica. Sin embargo, recientemente su utilidad y aplicación ha transgredido el ambiente de esos laboratorios y ha incursionado en la clínica. En las revistas médicas más prominentes como el New England Journal of Medicine, British Journal of Cancer y otras más, ya han aparecido artículos que usan esta novedosa tecnología para descubrir nuevos mecanismos, marcadores, e inclusive susceptibilidad a fármacos en padecimientos definidos. Es por ello muy importante que el clínico moderno tenga una información adecuada para entender este nuevo tipo de investigación clínica basada en esa metodología.

Los microarreglos de DNA constituyen una de las armas más poderosas y versátiles de la investigación genómica y genética. Estos microarreglos permiten usar con ventaja la creciente información de secuencias del genoma para medir en forma paralela y cuantitativa la expresión de los genes a través del RNA mensajero de decenas de miles de genes simultáneamente. Estos microarreglos se basan en el principio bien conocido de que las moléculas de ácidos nucleicos se aparean e hibridizan con sus bases complementarias y al hecho de que los genes activos copian su información en forma de RNA mensajero. En esta forma se ha ideado construir sistemas pasivos que contienen secuencias de DNA inmovilizadas en un medio sólido que generalmente es

* Investigador Titular, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia:

Luis Benítez Bribiesca

Coordinación de Investigación en Salud, 4º Piso Bloque B de la Unidad de Congresos, Centro Médico Nacional, Av. Cuauhtémoc 330, 06720 México, D.F.

Correo electrónico: luisbenbri@mexis.com

Aceptado: 15-05-2004.

de vidrio. Estos pequeños fragmentos de DNA inmovilizados que representan a partes muy amplias del genoma normal pueden ser hibridizados con secuencias de RNA mensajero que provienen de las células o tejidos cuyos genes quieran ser explorados. Las moléculas del RNA mensajero se aparearán con su contraparte de DNA indicando la secuencia génica activada en el tejido problema. Para lograr la visualización de las moléculas que hibridizan a las secuencias fijas, es necesario marcar a las moléculas que provienen del tejido en estudio con marcas fluorescentes. La observación se realiza bajo luz fluorescente con láseres de diversa longitud de onda. En esta forma es posible conocer la concentración de algunas de las secuencias y la relación de concentraciones entre dos muestras y esto puede hacerse con miles de genes simultáneamente. En esta forma los microarreglos se usan para medir la expresión de genes y los cambios de esa expresión tanto en células de cultivo, en tejidos, en núcleos, en células microdisecadas o aun en muestras con pequeño número de células. El tipo más comúnmente usado de microarreglos de DNA es el de arreglos de alta densidad de oligonucleótidos que se sintetizan *in situ* sobre una superficie de vidrio como los que produce comercialmente Affymetrix. Estos arreglos contienen más de 400,000 secuencias en un área no mayor de una pulgada cuadrada en donde se pueden explorar hasta 13,000 genes simultáneamente. La lectura de la información obtenida se realiza por medio de sistemas de software específicamente diseñados para analizar la enorme cantidad de datos que se obtienen de estos microarreglos. Éste es uno de los problemas limitantes de su uso e interpretación.²

Por ahora la metodología, aunque en principio simple, requiere de instrumentos y sistemas complejos de lectura que hacen el proceso caro y difícil de realizar, por lo que hasta el momento estas pruebas sólo se llevan a cabo en laboratorios de alta tecnología. Sin embargo, se ha visto que el costo de los microarreglos disminuye año con año y que cada día su uso invade áreas diversas de la genómica y de la clínica. Aunque muchas de las secuencias génicas que se estudian con esta metodología no son conocidas, lo que importa es saber que conjuntos de genes se expresan en forma anormal ya sea por exceso o por defecto en determinadas condiciones patológicas. Con este concepto es posible encontrar grupos de expresión génica que funcionen como biomarcadores, o como indicadores de progresión o susceptibilidad a la enfermedad. También se ha encontrado una gran utilidad en la toxifarmacología ya que es posible definir distintas respuestas individuales a fármacos, así como la susceptibilidad adversa a los mismos.^{1,2}

Entre los ejemplos más recientes de la aplicación de la técnica de microarreglos de DNA a la clínica se encuentran los de Yeoh y cols,³ que realizaron una nueva clasificación de subtipos de leucemia linfoblástica aguda capaces de predecir su curso y susceptibilidad al tratamiento; el de van de Vijver y cols,⁴ que pudieron definir un patrón de expresión génica para predecir la sobrevida en pacientes con cáncer de mama y los trabajos de Bullinger y cols,⁵ y de Valk y cols,⁶ donde describen la expresión génica en la leucemia mieloide aguda del adulto identificando subclases de este padecimiento con diversas respuestas al tratamiento. Estos dos últimos trabajos son un buen ejemplo de lo que constituye el enfoque genómico para el descubrimiento de biomarcadores en las pesquisas clínicas. En cada uno de esos casos, las variables estudiadas, aproximadamente 26,000 y 13,000 genes respectivamente, exceden con mucho el número de pacientes estudiados, 116 y 85 respectivamente. Es claro que el comportamiento específico de genes individuales sería menos informativo que el movimiento compuesto de grupos de genes por lo que un agrupamiento específico de estos genes fue el utilizado como biomarcador. Esto ejemplifica el poder de los microarreglos y su habilidad para usar patrones imprecisos de expresión de genes en vez de los umbrales específicos de marcadores individuales. Con estos resultados, nuestra forma tradicional de enfrentar el descubrimiento de biomarcadores en estudios clínicos está a punto de cambiar dramáticamente. En el futuro las investigaciones clínicas consistirán en estudios pequeños con un número reducido de pacientes pero con una muy alta densidad de datos, estratificación precisa de los pacientes de acuerdo al perfil de expresión génica y un análisis de alta precisión obtenido de los microarreglos de DNA.

El clínico moderno deberá estar preparado para entender el creciente número de trabajos que se basarán en ésta y otras técnicas genómicas como el análisis en serie de expresión génica (SAGE), la hibridización genómica comparativa, el cariotipo espectral y la hibridización *in situ* fluorescente.⁷ No cabe duda que la práctica médica tendrá que fundamentarse cada vez más en los trabajos emanados de la investigación biológica básica para entender mejor los mecanismos de enfermedad y particularmente los procesos patofisiológicos a nivel molecular. Se prevé que en el campo de la farmacología aplicada la técnica de los microarreglos de DNA desempeñará un papel fundamental para conocer las respuestas y efectos adversos probables en cada paciente que se explore. Además es ya un hecho que la toxicofarmacología y el diseño de medicamentos están usando esta tecnología para la fabricación de nuevos fármacos.

REFERENCIAS

1. Liu ET, Karuturi KR. Microarrays and clinical investigations. *N Engl J Med* 2004; 350: 1595-1597.
2. Butte A. The use and analysis of microarray data. *Nature Rev. Special Issue Microarrays collection* 2004: 11-20.
3. Yeoh EI, KRoss ME, Shurtleff SA et al. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 2002; 1: 133-143.
4. van de Vijver MJ, He YD, van 't Veer LJ et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
5. Bullinger L, Döhner K, Bair E et al. Use of Gene-expression profiling to identify prognostic subclasses in adult acute myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2004; 350: 1605-1616.
6. Valk PJM, Verhaak RGW, Beijen MA, Erpelink CAJ et al. Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. *New Engl J Med* 2004; 350: 1617-1628.
7. Ried Th. Cytogenetics - In color and digitized. *N Engl J Med* 2004; 350: 1597-1600.

