



La genómica en la medicina

Ruth Ruiz Esparza-Garrido,^a
Miguel Ángel Velázquez-Flores,^a
Diego Julio Arenas- Aranda,^a
Fabio Salamanca-Gómez^{a,b}

Genomics in medicine

The development of new fields of study in genetics, as the omic sciences (transcriptomics, proteomics, metabolomics), has allowed the study of the regulation and expression of genomes. Therefore, nowadays it is possible to study global alterations—in the whole genome—and their effect at the protein and metabolic levels. Importantly, this new way of studying genetics has opened new areas of knowledge, and new cellular mechanisms that regulate the functioning of biological systems have been elucidated. In the clinical field, in the last years new molecular tools have been implemented. These tools are favorable to a better classification, diagnosis and prognosis of several human diseases. Additionally, in some cases best treatments, which improve the quality of life of patients, have been established. Due to the previous assertion, it is important to review and divulge changes in the study of genetics as a result of the development of the omic sciences, which is the aim of this review.

El desarrollo de nuevas áreas de estudio dentro de la genética, como las ciencias ómicas (transcriptómica, proteómica, metabolómica), ha permitido estudiar al genoma a diferentes niveles de regulación y expresión. Gracias a esto, actualmente se pueden estudiar las alteraciones génicas de un organismo de forma global ("genoma") y se puede identificar el efecto que tienen estas alteraciones a nivel de proteína y de la producción de metabolitos. De manera importante, esta nueva forma de estudiar la genética ha abierto nuevos campos de conocimiento y ha dilucidado nuevos mecanismos celulares que rigen el funcionamiento de los sistemas biológicos. A nivel clínico, en los últimos años se han implementado nuevas herramientas moleculares que permiten hacer una mejor clasificación, un mejor diagnóstico, así como un pronóstico más acertado de diversas enfermedades. Asimismo, en algunos casos se han establecido mejores tratamientos que favorecen la calidad de vida de los pacientes. Debido a todo lo anterior, es importante revisar y divulgar el cambio que ha tenido el estudio de la genética gracias al desarrollo de las ciencias ómicas, el cual es el objetivo de esta revisión.

Keywords Palabras clave

Genes	Genes
Genetics	Genética
Genomics	Genómica
Regulation	Regulación
Expression	Expresión
Human diseases	Enfermedades

^aUnidad de Investigación Médica en Genética Humana, Hospital de Pediatría

^bCoordinación de Investigación en Salud

Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal, México

Comunicación con: Fabio Salamanca-Gómez

Correo electrónico: fasalam@prodigy.net.mx

El estudio de los genes (como elementos que permiten transmitir la información hereditaria de un organismo parental a su descendencia) comenzó con las observaciones y postulados hechos por Gregor Mendel en 1865. Estos estudios sentaron las bases de la herencia y, en consecuencia, surgió un gran interés por conocer y comprender tanto la estructura como los mecanismos que subyacen al proceso de transmisión de esta. Los experimentos de Oswald Avery, William MacLeod y Maclyn McCarty (1944) demostraron que el elemento encargado de almacenar la información genética y transmitirla es la molécula del ácido desoxiribonucleico (DNA). Posteriormente, James Wattson y Francis Crick (1953) describieron la estructura del DNA, lo que generó una explosión en el conocimiento y desarrollo tecnológico para su estudio: tecnología del DNA recombinante, secuenciación automática del DNA, así como la generación de bases de datos y programas de cómputo especializados para el procesamiento de los datos. Este avance tecnológico ha permitido rebasar una gran barrera en el conocimiento científico, que va de la caracterización de la función de los genes y su ubicación física en los cromosomas, hasta el estudio de genomas completos. Gracias a esto, hoy en día se cuenta con la secuencia completa de un gran número de organismos, incluida la del genoma del humano;^{1,2} sin embargo, a pesar de la gran cantidad de información generada, aún existen muchas interrogantes en cuanto al origen, el desarrollo y la progresión de las enfermedades. Debido a esto, recientemente han surgido nuevas ciencias, como la genómica, que se dedica al mapeo, secuenciación y

análisis de las funciones de los genomas completos. La genómica aporta información acerca de la secuencia y analiza la función de cada región del genoma en circunstancias determinadas, así como de los mecanismos implicados en la regulación de su expresión. Importantly, la aplicación de la genómica abarca diferentes ámbitos relacionados con la actividad humana, como el medio ambiente y la salud.^{1,2} Con base en lo anterior, podemos decir que en el desarrollo de la genómica existe una era pre-genómica, en la cual “espíamos” a los genes, estudiando uno por uno su localización cromosómica, su función y su asociación con patologías específicas, y una era post-genómica, en la que ya no “espíamos” a los genes, sino que “le podemos preguntar” de forma masiva al genoma completo sobre los cambios que se generan a diversos niveles bajo diferentes condiciones o circunstancias.

La genómica se divide en dos ramas principales: La genómica estructural, la cual se ocupa de la caracterización física de los genomas completos, y la genómica funcional, la cual emplea las técnicas de análisis masivo para el estudio de genes, proteínas y metabolitos. En términos generales, la genómica trata de explicar el origen de un fenotipo determinado a partir de los cambios generados en cualquiera de los niveles moleculares antes mencionados.¹⁻³ Importantly, ambas ramas de la genómica permiten ir más allá de la simple descripción de un solo gen, ya que permiten conocer las variaciones del genoma a distintos niveles: expresión de RNAs mensajeros y de proteínas; producción de metabolitos y las interacciones físicas que cada uno de estos componentes celulares establece para formar las redes de interacción que le dan forma a un sistema biológico. Por lo anterior, hoy en día la genómica forma parte integral de las ciencias biomédicas y ha comenzado a modificar la práctica médica con el establecimiento de mejores métodos de diagnóstico y pronóstico (figura 1).

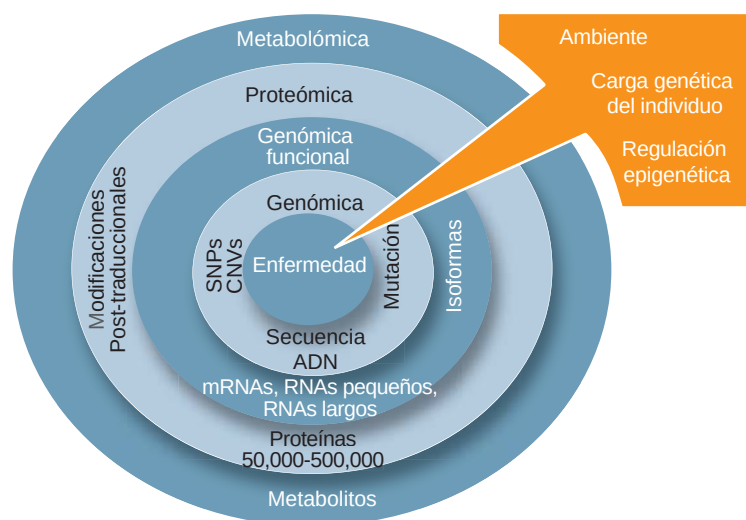


Figura 1 Estudio global de las patologías humanas. El desarrollo de las ciencias ómicas ha generado miles de datos acerca de las alteraciones moleculares asociadas a una enfermedad. En un futuro, se espera que las alteraciones moleculares características de cada paciente permitan establecer tratamientos personalizados

Secuenciación masiva

La mayor parte de las enfermedades son el resultado de factores hereditarios y ambientales.³⁻⁵ Las enfermedades complejas, como el cáncer, resultan de la acumulación de alteraciones en la secuencia del DNA (denominadas mutaciones), las cuales generan un cambio en el funcionamiento de los genes implicados que lleva al inicio, establecimiento y progresión de la neoplasia. Relacionado con esto, las tecnologías de secuenciación masiva han permitido detectar la presencia simultánea de miles de mutaciones que, en ciertos casos, están directamente asociadas con la evolución de la enfermedad.^{5,6} La secuenciación del genoma humano reveló la existencia de variaciones en

el DNA de cada persona, que, a diferencia de las mutaciones, son frecuentes y en la mayoría de los casos no tienen una repercusión aparente en el fenotipo o en el desarrollo de una patología. De manera interesante, la mayoría de estos cambios (93 %) se encuentran situados en regiones de regulación en *cis* no codificantes,⁵⁻⁷ las cuales se conocen como polimorfismos. Estos se clasifican como polimorfismos de nucleótido único (SNP, por sus siglas en inglés: single nucleotide polymorphisms), de repetición (conformados por grupos de nucleótidos que se repiten) y de cambio en el número de copias (CNV, por sus siglas en inglés: copy number variations), los cuales están constituidos por regiones grandes del genoma (≥ 1 kb).⁵⁻⁷

En la última década, la secuenciación de nueva generación ha dado lugar a un crecimiento exponencial en la obtención de datos, lo cual ha sido impulsado por el gran interés de la comunidad científica de determinar las regiones funcionales y de regulación del genoma humano. En este sentido, con el proyecto de los 1000 genomas (2008) se identificaron todas las diferencias genéticas subyacentes que determinan la resistencia o la susceptibilidad a ciertas enfermedades,⁷ las cuales hoy en día son importantes biomarcadores de predicción, diagnóstico y pronóstico.

Microarreglos

La tecnología de los microarreglos se desarrolló debido a la necesidad de analizar la información generada por los análisis de secuenciación, es decir, para evaluar el efecto que tienen los cambios generados en la secuencia de DNA sobre la expresión génica. Un microarreglo consiste en una serie de sondas unidas a un soporte sólido que tiene una disposición ordenada del genoma. Sobre esta serie se hibrida una muestra del DNA o RNA que se desea estudiar.

La aplicación clínica de los microarreglos ha tenido un alto impacto sobre el entendimiento de diversas enfermedades, particularmente del cáncer.⁸⁻¹⁰ Este tipo de análisis ha permitido identificar diferencias en el perfil génico de personas sin cáncer y de aquellas con cáncer, así como diferencias entre los grados de progresión de una neoplasia. De manera relevante, este tipo de estudios ha permitido obtener firmas moleculares que son empleadas para la clasificación de ciertos tipos de cáncer. Actualmente se cuenta con pruebas específicas de diagnóstico y pronóstico para el cáncer de mama; entre ellas podemos mencionar pruebas tales como MammaPrint (Agendia BV, Amsterdam, the Netherlands), Oncotype DX (Genomic Health, Redwood City, California) y H/I (AvariaDX, Carlsbad, California). Estos ensayos están basados en la expresión de ciertos genes que

se asocian con el pronóstico de la neoplasia. De esta forma es posible saber si un tratamiento le favorece al paciente o si este tiene algún riesgo de desarrollar metástasis a largo plazo.^{11,12} El nivel de precisión de esta metodología para diagnosticar y emitir un pronóstico confiable de diversas enfermedades es cada vez más eficiente.¹³ Además de los biomarcadores establecidos para el cáncer de mama, existen biomarcadores para otros tipos de cáncer. Por ejemplo, se sabe que la sobreexpresión del factor de transcripción alfa inducido por hipoxia (HIF1-alfa) es un marcador que permite establecer un buen pronóstico en pacientes con cáncer oral.¹⁴ Asimismo, las diferencias en el perfil de expresión, entre un tejido no canceroso y un tejido tumoral de cáncer de próstata, revelaron que los genes *epsina* y *PIM1* se pueden emplear como biomarcadores de mal pronóstico para este tipo de cáncer.¹⁴

Los microarreglos también han demostrado ser de gran utilidad para el estudio de otro tipo de enfermedades complejas, como la diabetes mellitus. En el 2006, Sashkin *et al.* demostraron, mediante el empleo de arreglos de expresión y de PCR en tiempo real, que las citosinas y las enzimas que modifican a los lípidos de baja densidad promueven la presencia de macrófagos activados, los cuales inducen la resistencia a la insulina.¹⁵ De esta forma, el empleo de estas metodologías de análisis masivo ha permitido profundizar en el entendimiento de diversas patologías y ha generado clasificaciones mucho más precisas que nos permiten diferenciar tipos y subtipos de una misma patología.¹⁶ La mayoría de los estudios de expresión (microarreglos) se apoyan en metodologías como los microarreglos de microRNAs y de tejidos, los cuales revelan cambios en la regulación de la traducción y en la expresión de proteínas.¹⁷⁻²⁰

Proteómica

El genoma humano contiene entre 20 000 y 25 000 secuencias que codifican para proteínas. Sin embargo, es importante mencionar que cada producto génico es sujeto a mecanismos de maduración: empalme alternativo, edición del RNA y modificaciones pos-traduccionales que resultan en una amplia variedad de isoformas de la misma proteína. Debido a esto, las proteínas generadas se pueden localizar en diferentes regiones subcelulares para ejercer funciones diversas.^{1,2}

La proteómica es una rama de la genómica que se dedica al estudio del proteoma. Este, a su vez, es un conjunto de proteínas que se expresan en una célula, tejido u organismo en un momento determinado y bajo circunstancias específicas. Las técnicas empleadas se centran en la caracterización de las proteínas a gran escala, su identificación y el establecimiento de su

función en redes celulares; por lo tanto, el objetivo de la proteómica es cuantificar e identificar los cambios en la expresión de proteínas de un organismo en ciertas condiciones. Es importante destacar que las proteínas representan el producto final de la información genética que se codifica en el genoma y que están implicadas en todos los procesos celulares. Debido a esto, la identificación de los cambios en la expresión de proteínas es un reflejo de alteraciones en las redes de señalización celular en una patología.¹⁻² Los estudios de tipo proteómico han permitido identificar, proponer y complementar el estudio de diversos biomarcadores y de vías de señalización que contribuyen al entendimiento de los mecanismos moleculares que subyacen a la generación de una patología determinada.³ Relacionado con esto, algunos de los principales biomarcadores de distintos tipos de cáncer son el antígeno CA15-3 (para el cáncer de mama), la α -fetoproteína L3 (AFP L3), la carboxiprotrombina (para el carcinoma hepatocelular) y el antígeno prostático (PSA) (para cáncer de próstata). Es importante mencionar que todos estos biomarcadores se emplean actualmente en la clínica.^{3,21}

Además, los perfiles de expresión global de proteínas han revelado patrones únicos entre tejidos tumorales y tejidos sin cáncer, así como patrones de expresión diferencial entre pacientes con tumores del mismo grado histopatológico y entre los distintos grados de progresión de un tumor.²² De manera importante, estos estudios han permitido correlacionar los perfiles de expresión de proteínas con la respuesta al tratamiento y con la progresión de la enfermedad y son complementarios a los perfiles moleculares identificados por secuenciación y microarreglos. Gracias a este tipo de estudios se puede tener una visión global de los elementos que están alterados en una patología y, de esta forma, comprender su participación en las redes celulares que establecen el mal funcionamiento del organismo.²¹⁻²³

Metabolómica

Los metabolitos que se generan en una patología son el reflejo de la adaptación de los sistemas biológicos a las condiciones establecidas por el mal funcionamiento de las redes celulares; se ha estimado que alrededor de 2000 diferentes metabolitos se producen endógenamente.²⁴⁻²⁷ Al igual que la proteómica, el objetivo de la metabolómica es caracterizar el conjunto de este tipo de moléculas producidas en una célula, tejido u organismo en circunstancias determinadas. Así, esta aproximación nos permite conocer y comprender las rutas metabólicas que están alteradas en el sistema celular, en una patología determinada. Debido a que los metabolitos constituyen el producto final de la expresión de los genes, el estudio cualitativo y cuanti-

tativo de la composición metabólica de un organismo permite identificar la función de muchos genes. Asimismo, se considera que la metabolómica constituye la rama de la genómica que genera más información a nivel funcional, debido a que de esta forma podemos conocer las alteraciones fisiológicas que está sufriendo una célula en un momento determinado.²⁴⁻²⁷

Como se mencionó anteriormente, los datos generados por las ciencias “ómicas” dan cúmulos de información a los diferentes niveles que tiene la codificación génica; sin embargo, el gran reto de la comunidad científica en la actualidad es crear métodos y herramientas bioinformáticas que permitan integrar toda esta información.

Bioinformática

El avance biotecnológico de los últimos años ha permitido obtener datos a gran escala, a diferentes niveles (DNA, RNA, proteínas, metabolitos) y a partir de una sola muestra. Como resultado, se han obtenido una infinidad de datos a partir de los cuales se obtiene información y conocimiento por medio de herramientas como la bioinformática y la biología de sistemas. Gracias al desarrollo de estas ciencias, a la fecha existen grandes avances a nivel de ciencia básica; sin embargo, el desarrollo de terapias con un impacto directo sobre los pacientes va más lento. El interés de conocer y comprender los mecanismos moleculares que determinan la iniciación, el establecimiento y la progresión de una patología, así como la necesidad de desarrollar e implementar terapias efectivas que tengan como blanco los procesos que dirigen el comportamiento de la enfermedad, ha motivado el estudio y desarrollo de nuevas áreas científicas. No obstante, la dificultad para hacer frente a la complejidad de los sistemas biológicos —falta de los modelos y de herramientas bioinformáticas— no ha permitido desarrollar fármacos esenciales para controlar o erradicar una patología en particular. Este enfoque se complica debido al entendimiento emergente de que las funciones celulares no están gobernadas por genes o proteínas individuales, sino al contrario, son la consecuencia de la integración de la información por medio de redes complejas y dinámicas.^{28,29}

Las redes celulares están bastante conservadas a lo largo de la evolución y han incrementado su tamaño y complejidad conforme las especies evolucionan y los genes se duplican; esto sugiere que la biología comparativa de sistemas emplea organismos modelo para establecer principios que pueden ser extendidos a los sistemas “más complejos”: los mamíferos pueden ser altamente informativos.³⁰⁻³³ Debido a que las redes celulares son altamente dinámicas y responden

en distintas direcciones al micro y macroambiente en respuesta a factores extracelulares y hormonas, los modelos robustos no deben considerar única y exclusivamente la señal inducida por el ambiente. Por lo tanto, estos modelos deben incluir diversos mecanismos de regulación génica: regulación epigenética, empalme alternativo, RNA pequeños, modificaciones post-traduccionales y producción de metabolitos que determinan la función de la célula. La comprensión de estos mecanismos de regulación permitirá desarrollar modelos matemáticos robustos capaces de revelar principios emergentes y, con base en esto, predecir funciones celulares en respuesta a perturbaciones en el ambiente celular. Sin embargo, el entendimiento global de estas interacciones sigue siendo un gran reto para la investigación médica, debido a las funciones celulares aberrantes que conllevan al cambio en las conexiones de las redes biológicas y, por lo tanto, a la función celular.^{34,35} Como conclusión, la gran heterogeneidad que existe en las diferentes patologías humanas requiere el desarrollo de nuevas y poderosas tecnologías que nos permitan integrar los cambios en el flujo de información celular en modelos robustos que sean capaces de predecir blancos terapéuticos que beneficien directamente al paciente.

Herramientas matemáticas y de cómputo

Conforme el conocimiento científico ha ido avanzando, nos hemos dado cuenta de que los procesos biológicos son regulados a distintos niveles por redes de interacción. Con base en esto, el objetivo actual es crear métodos que nos permitan dirigir los tratamientos hacia las redes celulares con combinaciones de drogas o manipulando genéticamente diversos componentes de regulación.³⁶⁻³⁸ El empleo de fármacos diversos ha revelado la complejidad de las redes de señalización en células cancerosas al identificar asas de retroalimentación que pueden servir para corregir las perturbaciones celulares. Los cambios en los niveles de expresión génica, inducidos por el uso de RNA pequeños (RNA interferentes, RNA de asa pequeña—small hairpin RNA—, o microRNAs), muestran que las redes celulares son altamente dinámicas y que son capaces de adaptarse a un nuevo contexto de regulación; esta adaptación le permite a las células cancerosas persistir aun en presencia de alteraciones diversas. Estas respuestas adaptativas que tienen las células limitan la eficacia de algunas drogas empleadas en la terapia contra el cáncer, por lo que el reto inmediato es buscar la forma de integrar el gran número de datos—con los que se cuenta en la actualidad— en modelos ejecutables y predictivos. Una vez alcanzada esta meta, se espera emplear los modelos para la creación

de tratamientos personalizados que nos permitan controlar distintas patologías, como el cáncer.

Las redes dentro de la célula se han estudiado ampliamente en términos de su localización subcelular y su función biológica a nivel de redes de regulación génica, redes metabólicas y redes de señalización. Cada una de estas redes comparte varias similitudes en estructura, pero también tiene diferencias puntuales en términos del tiempo en el que actúa, así como en el nivel de complejidad con el que cada una es regulada.³⁹ Si bien estas redes se han estudiado de forma independiente, se encuentran estrechamente conectadas e integradas para asegurar que las funciones celulares respondan al microambiente.⁴⁰ Las células reciben la información del ambiente por medio de contactos que establecen con componentes estructurales de la matriz extracelular, factores de crecimiento y hormonas, así como por estrés físico y metabólico presentes en el microambiente. Esta información compleja debe ser procesada por redes de señalización intracelular que llevan a un cambio en las redes de regulación génica y que aseguran una respuesta apropiada. Por ende, el procesamiento de la información es crítico en la red de señalización debido a que las células deben diferenciar los tipos de señales recibidas: intensidad de la señal, duración, así como si el estímulo ocurre de forma independiente o en conjunto.

Relacionado con esto, el procesamiento de la información por las redes de señalización es dependiente de su topología, así como de la concentración y de las modificaciones post-traduccionales presentes en las proteínas, la localización subcelular y la formación y disolución de los complejos proteicos (figura 2).^{39,41} En las redes de señalización del cáncer, las mutaciones genómicas, los rearrreglos, las amplificaciones y las pérdidas alteran la topología de la señalización por la adición o por la pérdida de interacciones. Como consecuencia, estos cambios alteran la actividad de moléculas críticas en la red, lo cual conlleva a la adquisición de nuevas funciones que modifican los parámetros bioquímicos de la célula. La modulación de las redes típicamente involucra la alteración en la transcripción génica y en el metabolismo, así como cambios genéticos en respuesta al estrés, tales como la respuesta a la privación de alimentos o al daño del DNA. Las redes de regulación génica son por mucho las más estudiadas en levaduras y en bacterias debido a la “simplicidad” de los elementos de regulación, y a la relativa facilidad con la que se pueden manipular estos modelos de estudio. En este sentido, las redes metabólicas son quizás las mejor caracterizadas y aunque su estudio ha quedado en segundo plano—debido a un mayor interés por las redes de señalización y las redes génicas—, recientemente se ha resaltado la importancia de las redes metabólicas al conocer su

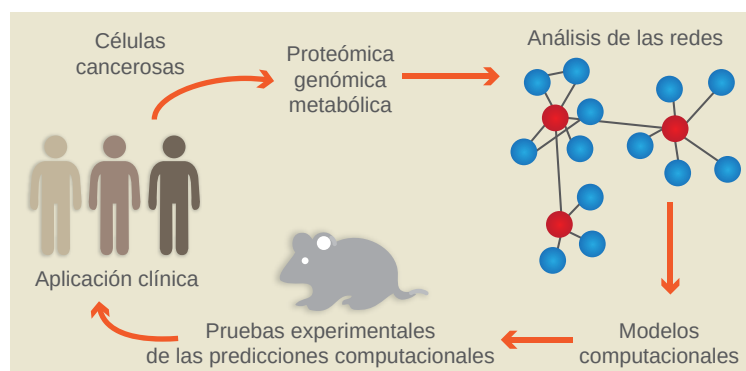


Figura 2 Ciencias ómicas. En la última década, las ciencias ómicas (transcriptómica, proteómica, metabolómica) han generado una innumerable cantidad de información relacionada con alteraciones moleculares a diferentes niveles de expresión. Lo anterior ha revelado nuevos biomarcadores moleculares para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de distintos tipos de patologías, como el cáncer

relevancia en la regulación de la proliferación celular en el cáncer.^{42,43} La observación de que muchos de los principios establecidos por los estudios hechos en organismos inferiores son aplicables a los sistemas de organismos superiores, como los mamíferos, ha permitido un gran avance en el entendimiento de la regulación de las redes celulares.

Perspectivas

Actualmente, el objetivo de la bioinformática es integrar y traducir la gran cantidad de datos obtenidos, por medio de herramientas de análisis masivo, en estrategias terapéuticas personalizadas aplicables a la clínica. La aplicación clínica de la terapia personalizada es una gran promesa para el tratamiento de diversas patologías humanas; sin embargo, a fin de optimizar el uso de este tipo de terapia, existen diversos retos, como implementar estrategias para identificar a los pacientes que se beneficiarán con este tipo de terapia; desarrollar métodos para aplicar terapias en las que

se emplee una combinación de diferentes drogas; o descubrir la forma de inhibir la resistencia primaria y adquirida de los pacientes a las drogas suministradas. Una de las principales razones por las que no se tiene éxito en la implementación de drogas dirigidas es nuestra incapacidad para identificar a los pacientes que más se beneficiarían con ellas. La necesidad de enfocar nuestro esfuerzo en el estudio y entendimiento de las redes para contrarrestar la progresión de distintas patologías es de alta importancia. En este sentido, pacientes con cáncer que fueron tratados con inhibidores de mTOR mostraron un crecimiento tumoral acelerado en comparación con aquellos pacientes que no fueron tratados; esto debido a una perturbación en componentes que regulan asas de retroalimentación.⁴⁴ Por lo tanto, el completo entendimiento de las redes que rigen el establecimiento de una patología es crítico para poder diseñar de manera óptima blancos terapéuticos para la terapia de patologías diversas; todo esto con base en las aberraciones tumorales presentes en cada paciente.

Conclusiones

El surgimiento de nuevos campos de conocimiento, como las ciencias ómicas, ha incrementado el conocimiento de diversas patologías humanas. Gracias a esto, se han dilucidado diversos biomarcadores que nos permitirán establecer un mejor diagnóstico, pronóstico y, en ciertos casos, un mejor tratamiento. Sin embargo, para tener un entendimiento total de la complejidad de los sistemas biológicos, es necesario implementar nuevas herramientas de estudio que nos permitan crear tratamientos personalizados.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

1. Encarnación GS, González V, Santamaría RI, Bustos P, Acosta JL, Fernández JL et al. Genómica y genómica funcional en microbiología. *Rev Latinoam Microbiol.* 2006;48(2):131-9.
2. Baker M. Genomics: Genomes in three dimensions. *Nature.* 2011;470:289-94.
3. Cho WC. Contribution of oncoproteomics to cancer biomarker discovery. *Mol Cancer.* 2007;6:1-13.
4. Metzker ML. Sequencing technologies — the next generation. *Nature.* 2010;11:31-46.
5. Maurano MT, Humbert R, Rynes E, Thurman RE, Haugen E, Wang H, et al. Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. *Science.* 2012;337:1190-5.
6. Danielsson K, Mun LJ, Lordemann A, Mao J, Lin CH. Next-generation sequencing applied to rare diseases genomics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2014;4:469-87.
7. US Department of Health and Human Services. NIH News National Institutes of Health. International Consortium Announces the 1000 Genomes Project. Bethesda: National Human Genome Research Institutes, 2008.
8. Graudens E, Boulanger V, Mollard C, Mariage-Samson R, Barlet X, Grémy G, et al. Deciphering cellular states of innate tumor drug responses. *Genome Biol.* 2006;7:R19.
9. Nagasaki K, Miki Y. Gene expression profiling of breast cancer. *Breast Cancer.* 2006;13(1):2-7.
10. Hu N, Su H, Li WJ, Giffen C, Goldstein AM, Hu Y,

- et al. Allelotyping of esophageal squamous-cell carcinoma on chromosome 13 defines deletions related to family history. *Genes Chromosomes Cancer*. 2005;44(3):271-8.
11. Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;347(25):1999-2009.
 12. Pusztai L, Broglio K, Andre F, Symmans WF, Hess KR, Hortobagyi GN. Effect of molecular disease subsets on disease-free survival in randomized adjuvant chemotherapy trials for estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(28):4679-83.
 13. Abramovitz M, Leyland-Jones B. A systems approach to clinical oncology: focus on breast cancer. *Proteome Sci*. 2006;4:4-5.
 14. Fillies T, Werkmeister R, van Diest PJ, Brandt B, Joos U, Buerger H. HIF1-alpha overexpression indicates a good prognosis in early stage squamous cell carcinomas of the oral floor. *BMC Cancer*. 2005;215:84.
 15. Shashkin PN, Jain N, Miller YI, Rissing BA, Huo Y, Keller SR, et al. Insulin and glucose play a role in foam cell formation and function. *Cardiovasc Diabetol*. 2006;20:5-13.
 16. Tan AC, Naiman DQ, Xu L, Winslow RL, Geman D. Simple decision rules for classifying human cancers from gene expression profiles. *Bioinformatics*. 2005;21(20):3896-904.
 17. Minafra L, Bravatà V, Forte GI, Cammarata FP, Giaraldi MC, Messa C. Gene expression profiling of epithelial-mesenchymal transition in primary breast cancer cell culture. *Anticancer Res*. 2014;34(5):2173-83.
 18. Fotinos A, Nagarajan N, Martins AS, Fritz DT, Garsetti D, Lee AT, et al. Bone Morphogenetic Protein-focused Strategies to Induce Cytotoxicity in Lung Cancer Cells. *Anticancer Res*. 2014;34(5):2095-104.
 19. Liu W, Li L, Li W. Gene co-expression analysis identifies common modules related to prognosis and drug resistance in cancer cell lines. *Int J Cancer*. 2014;26 [Epub ahead of print].
 20. Claerhout S, Lim JY, Choi W, Park YY, Kim K, Kim SB. Gene expression signature analysis identifies vorinostat as a candidate therapy for gastric cancer. *PLoS One*. 2011;6(9):e24662.
 21. Barallobre-Barreiro J, Chung YL, Mayr M. Proteomics and metabolomics for mechanistic insights and biomarker discovery in cardiovascular disease. *Rev Esp Cardiol*. 2013;66(8):657-61.
 22. Kerschgens J, Egner-Kuhn T, Mermod N. Protein-binding microarrays: probing disease markers at the interface of proteomics and genomics. *Trends Mol Med*. 2009;15(8):352-8.
 23. Kacerovsky M, Tambor V, Lenco J, Tosner J. Proteomics and biomarkers for detection of ovarian cancer. *Ceska Gynekol*. 2009;74(3):163-70.
 24. Scrivo R, Casadei L, Valerio M, Priori R, Valesini G, Manetti C. Metabolomics approach in allergic and rheumatic diseases. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2014;14(6):445.
 25. Dessi A, Corsello G, Stronati M, Gazzolo D, Caboni P, Carboni R, et al. New diagnostic possibilities in systemic neonatal infections: metabolomics. *Early Hum Dev*. 2014;90S1:S19-S21.
 26. Nikolic SB, Sharman JE, Adams MJ, Edwards LM. Metabolomics in hypertension. *J Hypertens*. 2014;26 [Epub ahead of print].
 27. Kaur P, Rizk N, Ibrahim S, Luo Y, Younes N, Perry B, et al. Quantitative metabolomic and lipidomic profiling reveals aberrant amino acid metabolism in type 2 diabetes. *Mol Biosyst*. 9(2):307-17.
 28. Mo ML, Palsson BO. Understanding human metabolic physiology: a genome-to-systems approach. *Trends Biotechnol*. 2009;27:37-44.
 29. Jordan JD, Landau EM, Lyengar R. Signaling networks: the origins of cellular multitasking. *Cell*. 2000;103:193-200.
 30. Davidson EH. Emerging properties of animal gene regulatory networks. *Nature*. 2010;468:911-20.
 31. Babu MM, Janga SC, de Santiago I, Pombo A. Eukaryotic gene regulation in three dimensions and its impact on genome evolution. *Curr Opin Genet Dev*. 2008;18:571-82.
 32. Shahrezaei V, Swain PS. The stochastic nature of biochemical networks. *Curr Opin Biotechnol*. 2008;19:369-74.
 33. Ideker T, Sharan R. Protein networks in disease. *Genome Res*. 2008;18:644-52.
 34. Hanahan D, Weinberg R. The hallmarks of cancer. The next generation. *Cell*. 2011;144:646-74.
 35. Kreeger PK, Lauffenburger DA. Cancer systems biology: a network modeling perspective. *Carcinogenesis*. 2010;31:2-8.
 36. Iadevaia S, Lu Y, Morales FC, Mills GB, Ram PT. Identification of optimal drug combinations targeting cellular networks: integrating phospho-proteomics and computational network analysis. *Cancer Res*. 2010;70:6704-14.
 37. Barabasi AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet*. 2011;12:56-68.
 38. Yildirim MA, Goh KI, Cusick ME, Barabasi AL, Vidal M. Drug-target network. *Nat Biotechnol*. 2017;25:1119-26.
 39. Alon U. Network motifs: theory and experimental approaches. *Nat Rev Genet*. 2007;8:450-61.
 40. Shlomi T, Eisenberg Y, Sharan R, Ruppin E. A genome-scale computational study of the interplay between transcriptional regulation and metabolism. *Mol Syst Biol*. 2007;3:101.
 41. Ma'ayan A, Jenkins SL, Neves S, Hasseldine A, Grace E, Dubin-Thaler R, et al. Formation of regulatory patterns during signal propagation in a mammalian cellular network. *Science*. 2005; 309:1078-83.
 42. Locasale JW, Vander Heiden MG, Cantley LC. Rewiring of glycolysis in cancer cell metabolism. *Cell Cycle*. 2010;9:4253.
 43. Vander Heiden MG, Locasale JW, Swanson KD, Sharfi H, Heffron GJ, Amador-Noguez D, et al. Evidence for an alternative glycolytic pathway in rapidly proliferating cells. *Science*. 2010;329:1492-9.
 44. O'Reilly KE, Rojo F, She QB, Solit D, Mills GB, Smith D, et al. mTOR inhibition induces upstream receptor tyrosine kinase signaling and activates Akt. *Cancer Res*. 2006;66:1500-8.