

BIOLOGÍA MOLECULAR: LA REVOLUCIÓN DE LOS MICROARRAYS



[ACTUALIZADO MARZO 2012]

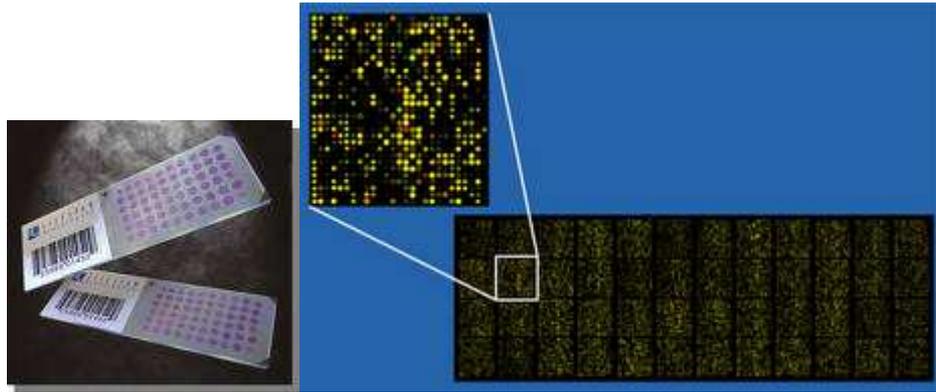
1. INTRODUCCIÓN

La biología molecular dispone de múltiples técnicas para medir ADN, ARN, proteínas o metabolitos. En los últimos años ha surgido la tecnología del **microarray**, que pretende ocupar un lugar relevante entre ellas.

Esta nueva metodología puede suponer un cambio tan importante en los análisis clínicos como lo fue en su tiempo la introducción de las técnicas de inmunoanálisis, que representaron una auténtica revolución.

La característica novedosa que introduce el **microarray** no es lo que puede medir, sino la cantidad de mediciones simultáneas que permite realizar utilizando un formato de reducidas dimensiones. Esto implica aceptar que se sacrifica la resolución para poder obtener una imagen muy amplia y compleja, pero capaz de proporcionar mucha información.

Aunque, en sus inicios, se aplicó principalmente al estudio del cáncer y de las enfermedades hereditarias, en la actualidad su uso se ha extendido no sólo a otras patologías, sino también a otros campos de la investigación con unas posibilidades futuras ilimitadas.

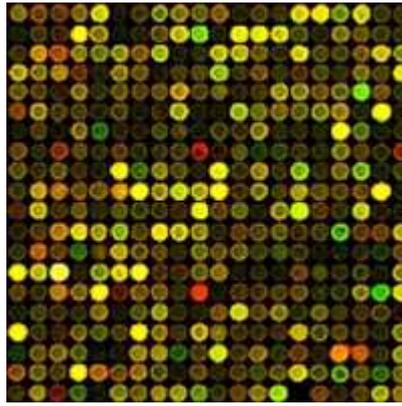


La terminología utilizada para este tipo de técnicas es muy variada y se habla de “*Biochip*”, “*DNA Chip*”, “*gene array*” o “*gene chip*”, pero el término *microarray* es el que parece que cuenta con mayor aceptación internacional.

2. FUNDAMENTOS DE LA TECNOLOGIA

Los principios del microarray se asocian con estudios genéticos basados en la hibridación molecular: en una matriz de vidrio, silicona, o nylon, se sitúan o “anclan” sondas (“*spots*”) de oligonucleótidos (fragmentos de DNA) conocidos, y en una ubicación precisa. La miniaturización permite el anclaje, en unos pocos centímetros, de cientos de “spots” de oligonucleótidos, alineados en filas y columnas, cada uno de los cuales se corresponde a una secuencia específica del DNA. Sobre ellos se sitúan o “hibridan” fragmentos de DNA desconocido, procedentes de tejidos o muestras problema de pacientes. Las bases complementarias se reconocen y se visualiza su hibridación mediante el uso de sustancias fluorescentes, aunque también se puede utilizar quimioluminiscencia o radiactividad.

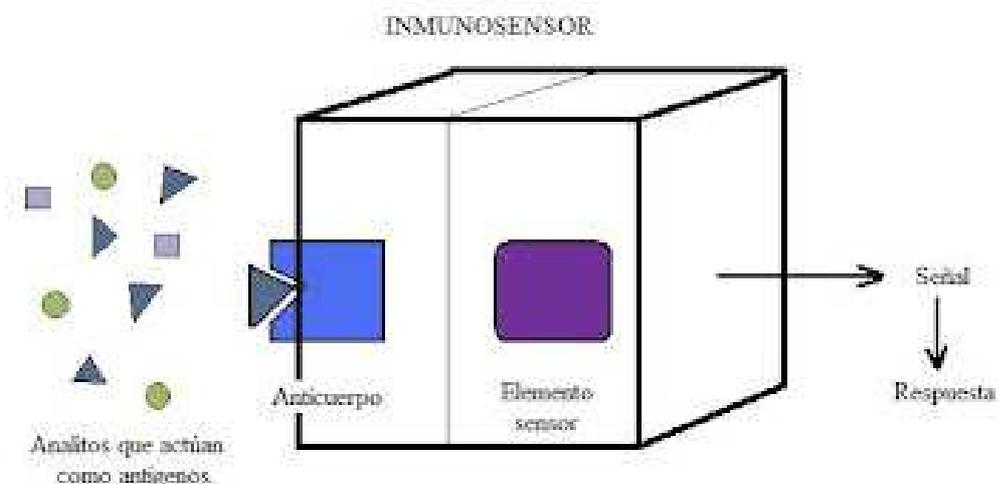
De ésta reacción se obtiene un *puzzle* en el que la lectura de los puntos marcados permite identificar la presencia o ausencia de los diferentes fragmentos, y componer un cuadro genómico, o huella genética, para la muestra problema.



La identificación puede ser, en ocasiones, laboriosa y puede precisar de la ayuda de algoritmos y programas informáticos que ayuden a la interpretación de los resultados.

Esta técnica, aunque en un principio se pensó para el estudio del DNA, también se puede aplicar el estudio de las proteínas e hidratos de carbono.

Cuando las aplicaciones de esta técnica se destinan a detección basada en especificidad anticuerpo-antígeno, podemos hablar de “**microarray de anticuerpos**”: En cada celdilla se habrán dispuesto moléculas de anticuerpos en lugar de fragmentos de DNA. Tras poner en contacto la muestra problema, cada anticuerpo reconoce y se acopla a un solo antígeno de forma específica. Después de esta incubación y un posterior revelado, obtendremos una imagen que se interpretará a través de un programa informático. Hemos aunado las técnicas de ELISA y microarray.



3. TECNOLOGIAS APLICADAS

Los microarrays más introducidos en el mercado permiten actualmente:

- Medir la expresión de genes (*Microarray expression analysis*), por ejemplo, en un tumor.
- Estudiar la mutación de un gen (*Microarray for mutation analysis*), por ejemplo, en una enfermedad hereditaria.
- La hibridación genómica o CGH (*Comparative Genomic Hybridization*) es una herramienta de análisis que permite un escaneado global de segmentos del genoma, o bien del cariotipo, para detectar la presencia de ganancias (amplificaciones o duplicaciones) o pérdidas (deleciones o nulisomías) respecto a un patrón conocido.
- El “microarray de anticuerpos” permite efectuar técnicas de ELISA y se utiliza para pruebas de alergia, microbiología y una gran cantidad de estudios en investigación biológica.

4.UTILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

4.1 Microarray y diagnostico prenatal.

En las técnicas clásicas de diagnóstico prenatal se utilizan células fetales en las que se detectan anomalías diversas que afectan a un solo gen (estudios monogénicos) o bien, mediante el estudio del cariotipo, alteraciones que afectan a grandes fragmentos de un cromosoma (deleciones, inversiones, translocaciones) o a su totalidad (aneuploidías).

La utilización del microarray, con una matriz donde se imprimen las partes del genoma que se desea investigar y que se compararan con el material genético obtenido del feto, permite aumentar la sensibilidad de los estudios de manera extraordinaria, ya que se pueden analizar pequeños fragmentos de unas 50.000 bases, frente a la resolución actual, mucho más grosera, que alcanza en el cariotipo sólo a grandes fragmentos de hasta 5.000.000 bases.

Además, se pueden detectar de una sola vez todas las regiones del genoma que se saben implicadas en cualquiera de las alteraciones cromosómicas más habituales.



La tecnología microarray está indicada en los mismos supuestos que el cariotipo clásico (anomalías ecográficas, historia familiar, abortos de repetición, screening bioquímico alterado, edad materna avanzada y ansiedad materna).

También puede ser muy útil en el caso de reordenamientos cromosómicos complejos detectados de novo en el feto por las técnicas convencionales. Su capacidad de resolución permite en estos casos conocer el alcance real del reordenamiento y, en su función, ajustar el riesgo fetal para poder ofrecer un consejo genético correcto.

En nuestro laboratorio podemos ofrecerle el *qChipPre* de Qgenomics. Esta prueba no altera el procedimiento estándar de obtención de muestra fetal a partir de vellosidad corial, amniocentesis o funiculocentesis, y es totalmente compatible con la obtención del cariotipo citogenético convencional.

También es importante su uso en el diagnóstico postnatal. El estudio *qChipPost* de Qgenomics estudia la totalidad del genoma, con distinta resolución en función de cada región. Está pensado para el estudio de pacientes con retraso del desarrollo, retraso mental idiopático y/o defectos congénitos.



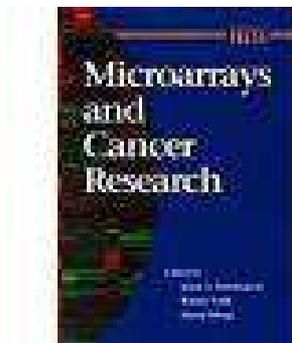
4.2 Microarray y cáncer

El estudio de las alteraciones genéticas propias de cada tipo de cáncer está adquiriendo cada vez mayor relevancia con la utilización de la tecnología de los microarrays.

Esta tecnología es, en teoría, ideal para conocer la huella genética de un tumor (*fingerprint*): de la hibridación de una muestra de tejido tumoral con “spots” de secuencias conocidas se permite deducir o no la presencia de genes activados relacionados con el tumor en dicha muestra.

Permite conocer, por tanto, la etiopatogenia de los procesos neoplásicos e identificar a los individuos con predisposición genética al cáncer en entornos familiares con una alta incidencia de neoplasias.

Además puede establecer un pronóstico cuando se ha diagnosticado un cáncer, al existir correlaciones estrechas entre la expresión de determinados genes y el pronóstico de la enfermedad.



Hay en el mercado algunos micorrays como el *Mammaprint* de la casa *Agendia*, que estudia 70 genes relacionados con la posibilidad de que un tumor vaya a desarrollar metástasis o no, pero su uso está aún restringido a situaciones y pacientes muy concretos, ya que la información aún no es suficientemente robusta como para modificar los criterios médicos asistenciales.

Igualmente, esta tecnología puede usarse en muestras de sangre o de orina, donde es posible detectar polimorfismos asociados con diferentes cánceres, entre ellos el colorectal (*Ramplcxrc*) o el de próstata (*Progensapca3*).

4.3 Microarray y otros procesos patológicos

Las enfermedades cardiovasculares (hipertensión, trombofilia, dislipemia), la osteoporosis, las enfermedades neurodegenerativas y la demencia, entre otras, empiezan a ser candidatas a contar con una valoración molecular de su etiopatogenia.

Un análisis genético de este tipo puede aportar una visión general de un posible problema. Se podrían detectar los individuos con predisposición genética a padecer determinadas patologías, con lo que se podría prevenir, retrasar su aparición, o bien tratarla mucho antes de que se produzca.

4.4. Microarray en alimentación y modelos de vida

Gracias a los avances en el conocimiento de las bases genéticas de la obesidad, y de los mecanismos hormonales que contribuyen a la acumulación y distribución de la grasa corporal, es posible un acercamiento molecular a los mecanismos que regulan el peso corporal, como son: la adipogénesis, la termogénesis y la lipólisis.



La obesidad es una patología de tipo multifactorial en que la contribución ambiental, como en otros procesos vitales, es importante, pero en la que también se ha puesto en evidencia un componente genético. La tecnología del microarray permite un primer acercamiento con el estudio de 40 SNPs, (*Single Nucleotide Polimorphism*) que se relaciona con la obesidad, en el kit ***CIC-nutriGEN*** de CIC Analítica Clínica Especial.

Este tipo de determinaciones permiten además modelar el estilo de vida a nuestra realidad genética, por ejemplo en la actividad deportiva: conocer el riesgo de padecer según que tipo de lesiones, respuesta al estrés oxidativo, capacidad física, combustión de grasa corporal, etc. Existe comercializado el kit ***CIC-sportGEN*** de CIC Analítica Clínica Especial.

4.5.Farmacogenómica

De todos es sabido que los efectos de los medicamentos varían en los individuos tanto en su potencial terapéutico, como en su capacidad para producir efectos adversos y toxicidad.

El modelo básico indicaría que la resultante final o efecto de un fármaco en una persona será pues la suma de las propiedades intrínsecas de la droga y su interacción con la base genética (poligénica) de predisposición, que proporciona al individuo diferencias heredadas en los receptores, en las proteínas metabolizadoras, transportadores, etc.

La base genética de predisposición está constituida por numerosos genes, que varían levemente de una persona a otra (polimorfismo génico), pero que en su combinación determinan la susceptibilidad genética específica, en este caso, la respuesta a un fármaco en particular.



¿Cuál es la estrategia planteada para enfrentar esta nueva etapa de la terapéutica farmacológica?

La respuesta está en la **Farmacogenómica**: el estudio de la variabilidad en la expresión génica en respuesta a determinados fármacos. Su objetivo es la creación de fármacos a medida para cada paciente y adaptados a sus condiciones genéticas.

La Farmacogenómica representa el concepto de "medicina individualizada" o práctica de la medicina en donde cada paciente recibe el tratamiento más apropiado, con la dosis más adecuada, basado en el conocimiento de su genoma.

5. LIMITACIONES

Las principales limitaciones son, por el momento, la falta de reproductibilidad y la dificultad momentánea para su estandarización. A ello hay que añadir, también, un elevado precio.

Su uso está aún restringido por las diferentes administraciones, no sólo por sus límites técnicos, sino sobre todo por las repercusiones que su uso indiscriminado puede producir en el ámbito socio-sanitario.

Como en otros campos, estamos ante un desafío para el mundo médico, pero también para la sociedad en general: el uso de una potente arma diagnóstica. Los riesgos son de dos tipos:

- El primero es de carácter médico: su utilización diagnóstica en procesos en los que su utilidad no está aún claramente establecida, o en las que los genes implicados son muchos y sus mecanismos de expresión en el ser humano están sujetos a una gran variabilidad, puede inducir a diagnósticos o terapias equivocados.
- El segundo es el aspecto humano: se podrá tener acceso a una información especialmente sensible para el paciente y su uso inadecuado, banal o con fines puramente comerciales, puede tener repercusiones personales enormes: sufrimiento, ansiedad, discriminación...