

Utilidad del análisis de micromatrices en patología hematolinfática del diagnóstico molecular a la terapia dirigida

Santiago Montes-Moreno,* Margarita Sánchez-Beato, Raquel Villuendas, Nerea Martínez, Giovanna Roncador y Miguel Ángel Piris

Grupo de Linfomas, Programa de Patología Molecular, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, Madrid, España.

RESUMEN

Históricamente, la patología oncohematológica siempre se ha caracterizado por profundizar en las bases biológicas de la enfermedad desde un punto de vista molecular. El análisis de expresión del ADN es parte de este cuerpo de biología molecular que se ha incorporado paulatinamente a la rutina en investigación básica y del que se derivan conocimientos acerca de la biología de las neoplasias, útiles para el diagnóstico y el tratamiento.

Los ensayos de hibridación en microarray o micromatrices, descritos a finales de la década del 80, se basan en la disposición de material genético sobre un sustrato (plástico, cristal, membranas), en posiciones conocidas. Los microarrays pueden incorporar entre 400 y 60.000 sondas de oligos, cDNA u otras macromoléculas. Plataformas similares de reciente aparición permiten realizar estudios de expresión de microRNAs y análisis de arrays de cGH para detectar desequilibrios genómicos.

Palabras clave:

Micromatrices, microarrays, linfomas, leucemias

SUMMARY

Historically, oncohematological pathology has always been characterized by exploring the biological basis of disease from a molecular point of view. The analysis of DNA expression is part of this body of molecular biology that has been gradually incorporated into routine basic research to gain knowledge about the biology of neoplasms that will be useful for diagnosis and treatment. Microarray hybridization trials or microarrays, as described in the late 1980s, are based on the deposition of genetic material on a substrate (plastic, glass, membrane) in known positions. The microarray can include between 400 and 60,000 oligonucleotide probes, cDNA, or other macromolecules. Similar platforms of recent appearance allow the performance of studies of microRNA expression and analysis of CGH array to identify genomic imbalances.

Key words:

Microarrays, lymphomas, leukemias

Introducción

La ventaja de usar un microarray ordenado es que se puede medir simultáneamente la suma de todas las interacciones y calcularlas al instante. El alto grado de integración del array de expresión en general, permite, en un solo ensayo, obtener multitud de valores de expresión génica relativa para distintas condiciones biológicas, lo que convierte a esta técnica en una herramienta de alto rendimiento para trabajos en el área de la genómica funcional.

El gran volumen de datos generados debe ser tratado con herramientas y métodos bioinformáticos.¹⁻³ Mediante estas herramientas es posible agrupar los genes individuales en grupos de expresión coregulada mediante análisis de "cluster" y buscar si existe enriquecimiento de vías funcionalmente

relevantes en nuestro grupo de casos o condición específica (GSEA y análisis de expresión diferencial entre clases).⁴

Aplicaciones de análisis de micromatrices en hematología

Las aplicaciones de esta tecnología en patología neoplásica hematológica son múltiples, pudiéndose dividir en cuatro grandes grupos:

- Búsqueda de perfiles de expresión característicos de un tipo neoplásico concreto. La firma de expresión de un tipo tumoral concreto puede ayudar en la identificación de neoplasia de difícil clasificación, desde el punto de vista clínico-patológico-inmunoquímico. Son ejemplos de esto

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Santiago Montes-Moreno. Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Avda. de Córdoba S/N, 28041, Madrid, España. Correo electrónico: santi_montes@hotmail.com

la identificación de la firma del denominado Linfoma de Burkitt molecular,⁵ o bien, la subclasificación de entidades heterogéneas desde el punto de vista clínico y patológico como Linfoma B Difuso de Células Grandes.⁶ En este último caso, los estudios de expresión añaden información clínicamente relevante al identificar subtipos con distinto pronóstico, implementando la clasificación basada en parámetros clínicos (IPI).

- Por su relación estrecha con el sistema de clasificación establecido de la WH,⁷ la información de expresión asociada a cada tipo tumoral se traslada directamente al ámbito clínico, permitiendo adoptar terapias específicas en función del diagnóstico integrado.
- El análisis de expresión diferencial entre clases permite identificar genes o vías funcionales relacionados con rasgos neoplásicos concretos (p ej resistencia o sensibilidad a fármacos específicos como Imatinib en Leucemia Mieloide Crónica⁸ o INF α en Micosis Fungoide,⁹ curso clínico indolente/agresivo en Leucemia Linfática Crónica¹⁰ o eventos biológicos relevantes como hipermutación somática en linfomas B de bajo grado.¹¹ En este sentido, la identificación de vías relevantes para la supervivencia de cada neoplasia concreta permite asociar fármacos que experimentalmente revierten dicho fenotipo, generando así nuevas hipótesis terapéuticas¹².
- También desde el punto de vista diagnóstico, el estudio de expresión del DNA es de utilidad en la correcta clasificación de las neoplasias. A partir de datos de expresión diferencial entre tipos tumorales es posible identificar marcadores específicos de neoplasia y desarrollar a posteriori anticuerpos monoclonales dirigidos contra el producto de expresión que sean útiles en el laboratorio de patología clínica (p ej nuevos marcadores de célula B centrogerminal como GCET1.¹³
- La integración de datos procedentes de diferentes plataformas de micromatrices (análisis de expresión de RNA

mensajero, análisis de expresión de microRNA, análisis de desequilibrios citogenéticos (cGH) y análisis de expresión proteica) permiten identificar complejos de regulación de la expresión del ADN alterados en la neoplasia hematolinfóide, profundizando en la biología de la transformación maligna.

Referencias

1. Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14863-14868.
2. Golub TR. Genomic approaches to the pathogenesis of hematologic malignancy. *Curr Opin Hematol* 2001;8:252-261.
3. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999;286:531-537.
4. Subramanian A, Tamayo P, Mootha VK, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:15545-15550.
5. Dave SS, Fu K, Wright GW, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 2006;354:2431-2442.
6. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-511.
7. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood* 2008;112:4384-4399.
8. Villuendas R, Steegmann JL, Pollan M, et al. Identification of genes involved in imatinib resistance in CML: a gene-expression profiling approach. *Leukemia* 2006;20:1047-1054.
9. Tracey L, Villuendas R, Ortiz P, et al. Identification of genes involved in resistance to interferon-alpha in cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Pathol* 2002;161:1825-1837.
10. Rodríguez A, Villuendas R, Yanez L, et al. Molecular heterogeneity in chronic lymphocytic leukemia is dependent on BCR signaling: clinical correlation. *Leukemia* 2007;21:1984-1991.
11. Tracey L, Aggarwal M, Garcia-Cosio M, et al. Somatic hypermutation signature in B-cell low-grade lymphomas. *Haematologica* 2008;93:1186-1194.
12. Guillans SR. connecting the dots using gene-expression profiles. *N Engl J Med* 2006;355:2042-2044.
13. Montes-Moreno S, Roncador G, Maestre L, et al. Gcet1 (centerin), a highly restricted marker for a subset of germinal center-derived lymphomas. *Blood* 2008;111:351-358.