



RETOS PRESENTES Y FUTUROS EN EL USO DE BIOMARCADORES EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

A pesar de que la medicina personalizada lleva años ganando terreno en el sistema asistencial, su implementación definitiva en la práctica clínica va a depender directamente del conocimiento que exista de las bases moleculares de cada una de las enfermedades. Una vez conocidas estas, la atención individualizada de cada paciente vendrá determinada por la definición de un perfil molecular particular.

CARLOS MARTÍNEZ,

Doctor en Química y FEA de Análisis Clínicos | CEO de Dreamgenics.

Estos perfiles estarán formados por un conjunto de biomarcadores de diferente naturaleza (genes, transcritos, proteínas o metabolitos) en función de las características de cada enfermedad.

En medicina, un biomarcador se define como una característica biológica que se puede medir objetivamente y que proporciona información relevante de la evolución de la enfermedad o de la probabilidad de respuesta a un tratamiento, entre otras. Por tanto, la identificación de biomarcadores permite mejorar la precisión del diagnóstico, el pronóstico y la selección del tratamiento que va a seguir el paciente, lo que incide de manera directa en la eficacia de las terapias utilizadas y en el aumento de su calidad de vida. En base a esta definición, se pueden distinguir cinco tipos de biomarcadores:

- Diagnóstico: Ayudan a definir el diagnóstico al distinguir entre diferentes enfermedades o subtipos de una misma enfermedad.
- Pronóstico: Ayudan a predecir el curso probable de la enfermedad.
- Predictivos: Indican la probabilidad de que un paciente responda a un tratamiento específico, lo que resulta de gran ayuda para los médicos a la hora de seleccionar el más adecuado.
- De monitorización: Evalúan la respuesta de un paciente al tratamiento.
- De detección temprana: Permiten diagnosticar la enfermedad de forma precoz.

Estudios de expresión diferencial a nivel de gen y de proteína

El estudio de los perfiles de expresión génica nos permite conocer qué genes se están expresando en una célula en un momento dado. Esto se debe a que la expresión génica celular está influenciada por estímulos externos e internos, incluido si la célula se está dividiendo, qué factores están presentes en el entorno celular, las señales que recibe de otras células, etc. Para determinarlos, normalmente se lleva a cabo la cuantificación relativa de los niveles de ARNm en dos o más condiciones experimentales y luego se evalúa qué condiciones dieron como resultado la expresión de genes específicos. Se pueden utilizar diferentes técnicas para determinar la expresión génica, como la secuenciación masiva o *Next-generation Sequencing* (NGS) y la PCR a tiempo real. La primera permite a los investigadores determinar todos los genes activos en una célula, mientras que la segunda mide la actividad de genes específicos de interés.

Entre sus muchas aplicaciones, el perfil de expresión génica puede utilizarse para investigar los efectos que tienen sobre las células diferentes condiciones alterando el entorno al que están expuestas y determinando qué genes se expresan en cada momento. Si ya se sabe que un gen está involucrado en un determinado comportamiento celular, conocer el perfil de expresión génica ayuda a

It's Easy To See



Social support



Working together



Sustainability



Eco Awareness



Sustainability



Environment



Reforestation



Social Ethics



Corporate responsibility

BET Sustainability

LAL Reagent Comparison Table	Conventional LAL Reagent	ACC's PyroSmart NextGen® (rCR) Reagent	First Generation Competitor (rFC) Reagent
Sustainable Reagent (animal free)	No	✓ Horseshoe Crab Blood Free	✓ Horseshoe Crab Blood Free
Kinetic Assay	Kinetic	✓ Kinetic	✗ No. Endpoint only
Assay Setup	Single step reconstitution	✓ Single step reconstitution	✗ No. rFC requires three reagents in a 1:4:5 ratio and a 10 min. pre-incubation step
Same Standard Plate Reader	Incubating plate or tube reader at 405 nm	✓ Yes. Incubating plate or tube reader at 405 nm	✗ No. Fluorescent reader required
Derived From <i>Limulus</i> Amebocyte Lysate (LAL)	LAL	✓ Yes. rCR is recombinant LAL	✗ No. Based on <i>Carcinoscorpius</i> or <i>Tachypyleus</i> Amebocyte Lysate (CAL/TAL)
Multi-step Cascade Pathway	Yes	✓ Yes	✗ No
Endotoxin Specific	No	✓ Endotoxin Specific	✓ Endotoxin Specific



Associates of Cape Cod Int'l., Inc.
 Your Endotoxin & Glucan Experts
 www.acciuk.co.uk • (+44) 151.547.7444
 Associates of Cape Cod, Inc. - a Seikagaku Group Company



determinar si una célula está llevando a cabo esta función. También pueden emplearse para investigar el efecto de fármacos en la respuesta celular y como herramienta de diagnóstico. Por ejemplo, si las células cancerosas expresan niveles más altos de ciertos genes, y estos genes codifican un receptor de proteína, este receptor puede estar involucrado en el cáncer y convertirse en una posible diana terapéutica para tratar la enfermedad. Determinar el perfil de expresión génica podría ser, por tanto, una herramienta de diagnóstico clave para las personas con este tipo de cáncer.

No obstante, para ser capaces de establecer correctamente la función de las células necesitamos más información que la aportada únicamente por el perfil de expresión génica. Para conseguirlo, puede resultar útil determinar también todas las proteínas que las células producen mediante experimentos de proteómica o mediante el análisis de paneles multiplexados. De manera similar a lo que ocurría con los genes, las técnicas proteómicas permiten identificar proteínas que están alteradas en una célula en un momento determinado y bajo unas circunstancias particulares en una aproximación no dirigida, mientras que los paneles multiplexados miden la concentración de proteínas específicas de interés.

Además, hay que tener en cuenta que la alteración de los niveles de ARNm, medidos durante el estudio del perfil de expresión génica, no es la única forma en que una célula cambia los genes que utiliza. Las modificaciones postraduccionales pueden alterar la estructura de proteínas sintetizadas a partir del mismo gen, lo que provoca

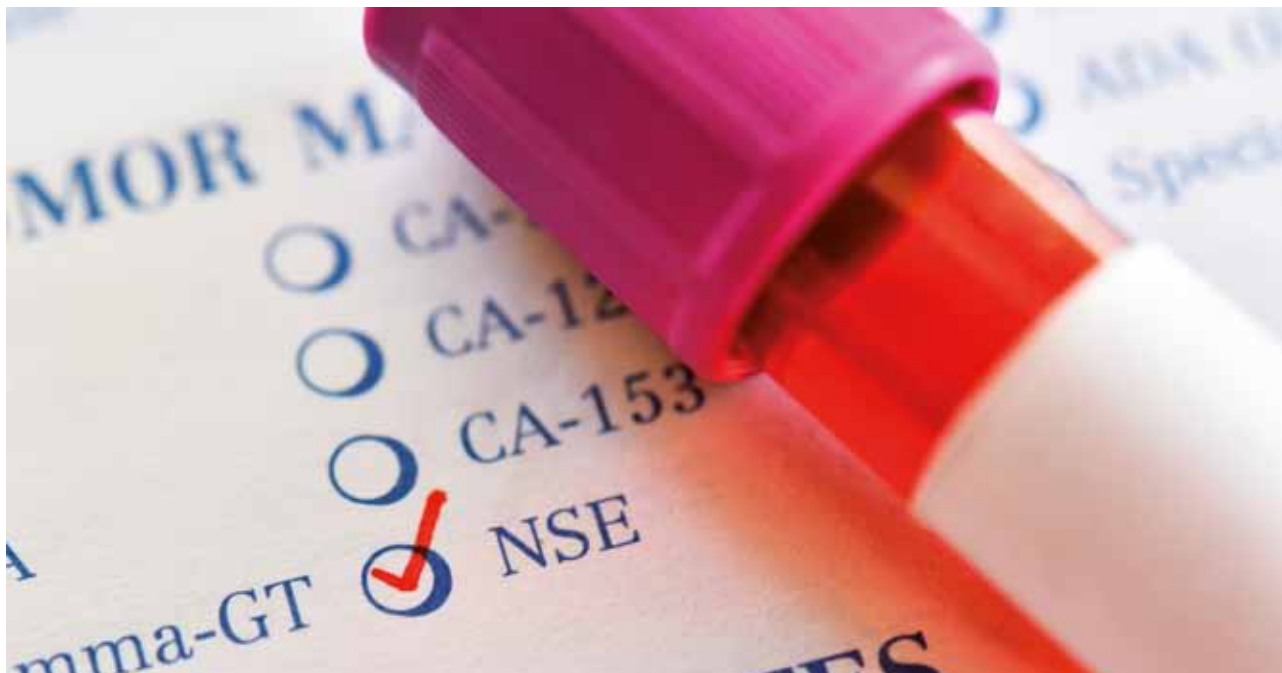
que cambios en los niveles de ARNm no estén necesariamente asociados con cambios en los niveles de proteína.

Retos presentes y futuros

Como se mencionó anteriormente, el desarrollo de la tecnología NGS ha permitido un enorme avance en el diagnóstico de enfermedades genéticas, gracias a la posibilidad de estudiar conjuntos de genes de manera dirigida en función de la patología estudiada o incluso analizar el exoma completo de un paciente, en caso necesario. Sin embargo, las enfermedades complejas, en cuyo desarrollo participan múltiples factores con diferente grado de influencia, no se han visto tan beneficiadas de los avances tecnológicos, al menos en lo que a traslación a la clínica se refiere. Este hecho ha traído consigo una mejora asimétrica en la capacidad para diagnosticar y tratar las diferentes enfermedades. Por tanto, es necesario seguir trabajando en desarrollar metodologías que permitan estudiar otros niveles moleculares (transcritos, proteínas y metabolitos), y analizar su asociación con las distintas enfermedades para que todos los pacientes puedan beneficiarse de estos avances.

De manera global, podemos distinguir cuatro grandes retos a los que se enfrentan las técnicas ómicas antes de llegar a utilizarse de manera regular en la práctica clínica:

- Datos: Se requiere una nomenclatura estandarizada para evitar errores y la existencia de bases de datos curadas.
- Equipamiento: Se requiere que exista la mayor homogeneidad posible en los resultados obtenidos



independientemente de la tecnología de los equipos utilizados, así como que éstos estén adaptados a las características y requerimientos específicos de los laboratorios clínicos, muy diferentes a los de la investigación.

- Almacenamiento: Las técnicas ómicas no sólo requieren equipos muy avanzados, sino también un análisis bioinformático posterior, que demanda instalaciones específicas para alojar servidores de gran capacidad para el procesamiento y almacenamiento de los datos generados.

- Personal cualificado: Una de las razones por las que la genómica está implantada ya de manera rutinaria en la práctica clínica es porque existían laboratorios de genética en los hospitales, donde ya se realizaban técnicas citogenéticas y secuenciación Sanger, entre otras, y con personal con el conocimiento necesario para interpretar los resultados obtenidos, a diferencia de lo que sucede con la proteómica y la metabolómica, por ejemplo.

No cabe duda que el uso combinado de múltiples tecnologías ómicas para la identificación de nuevos biomarcadores y la integración de la información generada por cada una de ellas permitirá aumentar enormemente nuestro conocimiento sobre las bases moleculares de las enfermedades. Este avance permitirá definir perfiles característicos en cada paciente de manera que seamos capaces de tratar individualizadamente a cada uno de ellos, optimizando los recursos sanitarios disponibles y consiguiendo los mejores resultados terapéuticos posibles.

Referencias

1. Stahlberg A, Kubista M, Aman P (2011) Single-cell gene-expression profiling and its potential diagnostic applications. *Expert Rev Mol Diagn* 11(7):735–740.
2. Fielden MR, Zacharewski TR (2001) Challenges and limitations of gene expression profiling in mechanistic and predictive toxicology. *Toxicol Sci* 60(1):6–10.
3. Hurd PJ, Nelson CJ (2009) Advantages of next-generation sequencing versus the microarray in epigenetic research. *Brief Funct Genomic and Proteomic* 8(3):174–183.
4. Underhill GH, George D, Bremer EG et al. (2003) Gene expression profiling reveals a highly specialized genetic program of plasma cells. *Blood* 101(10):4013–4021.
5. Richard C, Granier C, Inze D et al. (2001) Analysis of cell division parameters and cell cycle gene expression during the cultivation of *Arabidopsis thaliana* cell suspensions. *J Exp Bot*. 52(361):1625–1633.
6. Bertucci F, Finetti P, Rougemont J et al. (2004) Gene expression profiling for molecular characterization of inflammatory breast cancer and prediction of response to chemotherapy. *Cancer Res* 64(23):8558–8565.
7. Moulleron H, Delcourt V, Roucou X (2015) Death of a dogma: Eukaryotic mRNAs can code for more than one protein. *Nucleic Acids Res* 44(1):14–23.
8. Ezkurdia I, Juan D, Rodriguez JM et al. (2014) Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19,000 human protein-coding genes. *Hum Mol Genet* 23(22):5866–5878.
9. Sheng JJ, Jin JP (2014) Gene regulation, alternative splicing, and posttranslational modification of troponin subunits in cardiac development and adaptation: A focused review. *Front Physiol* 5:165.
10. Chandramouli K, Qian PY (2009) Proteomics: Challenges, techniques and possibilities to overcome biological sample complexity. *Hum Genomics Proteomics* 1:239204.