

Microarrays de ADN en hematología: aspectos metodológicos, aplicaciones clínicas y en investigación

Dr. Jose Angel Martínez-Climent

*Servicio de Hematología y Oncología Médica
Hospital Clínico Universitario
Universidad de Valencia. España
e-mail: martinez_jos@gua.es*



CONFERENCIA

HEMATOLOGIA, Vol. 7 N° 2: 47-48
Mayo-Octubre, 2003

En el año 1999, Golub y cols. emplearon la técnica de "microarrays" de ADN para distinguir a la leucemia aguda linfoblástica de la leucemia mieloide aguda.¹ Algo que parece tan sencillo ha supuesto un hito histórico en el campo de la hematología y oncología clínica. Los microarrays de ADN consisten en el análisis en un único experimento de cientos o miles de fragmentos de ADN inmovilizados sobre un microchip, el cual se hibrida con el ADN o ARN extraído del tumor. Posteriormente, se cuantifica la intensidad de fluorescencia para cada fragmento o sonda, que se corresponde con la cantidad de ADN o ARN de ese gen presente en la muestra. Estos análisis, tras el empleo de herramientas informáticas sofisticadas, nos proporcionan el perfil global del número de copias, o de la expresión, de un gran número de genes en el tumor. En general, existen varios tipos de microchips, dependiendo del tipo de sonda y del tipo de muestra que se utilice. Los microarrays de expresión son los más conocidos, tanto los que utilizan sondas de DNA complementario (cDNA) o bien los de oligonucleótidos (sistema de Affymetrix®).²⁻⁴ El análisis de la expresión de una célula se basa en que solo una fracción de los genes codificados en el genoma están expresados, esto es, se transcriben a ARN mensajero (ARNm). La cantidad de ARNm de cada gen depende del tipo de célula, de su estado de diferenciación, de su función o actividad intracelular, y de diversos estímulos extracelulares. Por lo tanto, los diversos estados fisiológicos y patológicos de una célula reflejarán diferentes perfiles de expresión propios.

La aplicación de estos microarrays de expresión abre las puertas hacia una nueva clasificación biológica

y clínica de las enfermedades hematológicas. Estos análisis determinan el patrón de expresión génica anómalo y característico de cada tumor, no solo permitiendo la clasificación correcta de neoplasias ya conocidas, sino reconociendo nuevas entidades indistinguibles con las tecnologías de análisis morfológico empleadas hasta la fecha.^{5,6} En otros casos, los microarrays de expresión han demostrado que la respuesta al tratamiento se basa en múltiples e independientes características biológicas del tumor, y han reconocido subgrupos de pacientes con pronóstico y supervivencia diferentes.⁵⁻¹² Más aún, los microarrays de expresión han identificado dianas diagnósticas y terapéuticas que ya tienen una gran utilidad práctica en el manejo de pacientes con neoplasias hematológicas.^{13,14}

Otra de las nuevas tecnologías de microchips es la hibridación genómica comparada en microarrays (array CGH).¹⁵⁻¹⁷ La técnica de array CGH se basa en los mismos principios que la CGH sobre cromosomas, pero estos se han sustituido por sondas de ADN sobre las que hibrida el ADN del tumor. Estos microarrays incluyen sondas de varios tamaños que van desde 100-200 Mb (BACs y PACs) a sondas más pequeñas (cDNAs), y que cubren áreas cromosómicas concretas, o bien el genoma completo.¹⁸ La CGH sobre microarrays ha resultado de gran utilidad para delimitar áreas de ganancia y pérdida genómica en enfermedades de origen genético, hereditario y tumoral, así como para caracterizar los perfiles genómicos de varios procesos tumorales con una mayor resolución que la CGH convencional.^{12,19-21} A diferencia de los microarrays de expresión, utilizados ampliamente en el análisis de numerosas enfer-

medades hematológicas, la aplicación de la técnica de array CGH en la mayoría de linfomas B está aún por llegar.

En resumen, los microarrays de ADN constituyen una nueva herramienta que está resultando imprescindible en la clasificación de leucemias y linfomas, y que además será una pieza clave en el manejo terapéutico de los pacientes en un futuro muy cercano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Golub TR, et al: Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 286:531-537,1999
2. Eisen MB, et al. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:14863-14868,1998
3. Brown PO, Botstein D. Exploring the new world of the genome with DNA microarrays. *Nat Genet* 21(suppl):33-37,1999
4. Staudt LM. Molecular diagnosis of the hematologic cancers. *N Engl J Med* 348:1777-85,2003
5. Alizadeh AA, et al: Distinct types of diffuse large B cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 403:503-511,2000
6. Rosewald A, et al: The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 346:1937-1947,2002
7. Yeoh EJ, et al. Classification, subtype discovery and prediction of outcome in acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 1:133-143,2002
8. Shaffer AI, et al. Signatures of the immune response. *Immunity* 15:375-385,2001
9. Davis RE, et al. Constitutive nuclear factor kappa B activity is required for survival of activated B-cell like diffuse large B-cell lymphoma cells. *J Exp Med* 194:1861-1874,2001
10. Ferrando AA, et al. Gene expression signatures define novel oncogenic pathways in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 1:75-87,2002
11. Schoch C, et al. Acute myeloid leukemia with reciprocal rearrangements can be distinguished by specific gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:10008-10013,2002
12. Martinez-Climent JA, et al: Transformation of follicular lymphoma is associated with a heterogeneous set of genomic and gene expression alterations. *Blood* 101:3109-3117,2003
13. Armstrong SA, et al. Inhibition of FLT3 in MLL: validation of a therapeutic target identified by gene expression-based classification. *Cancer Cell* 3:173-183,2003
14. Crespo M, et al: ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 348:1764-1775,2003
15. Solinas-Toldo S, et al: Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 20:399-407,1997
16. Pinkel D, et al: High resolution analysis of DNA copy number variation using CGH to microarrays. *Nat Genet* 20:207-211,1998
17. Pollack JR, et al: Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat Genet* 23:41-46,1999
18. Snijders AM, et al. Assembly of microarrays for genome-wide measurement of DNA copy number. *Nat Genet* 29:263-264,2001
19. Veltman JA, et al: Array-based comparative genomic hybridization for genome-wide screening of DNA copy number in bladder tumors. *Cancer Res* 63:2872-2880,2003
20. Fritz B, et al: Microarray-based copy number and expression profiling in dedifferentiated and pleomorphic liposarcoma. *Cancer Res* 62:2993-2998,2002
21. Sanchez-Izquierdo D, et al. MALT1 gene is deregulated by both chromosomal translocation and amplification in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 101:4539-4546, 2003