

42

APLICACIONES DE LAS TECNOLOGÍAS MOLECULARES A LA MEDICINA CLÍNICA

GEOFFREY S. GINSBURG



TECNOLOGÍAS MOLECULARES EN EL CONTINUUM DE LA SALUD A LA ENFERMEDAD

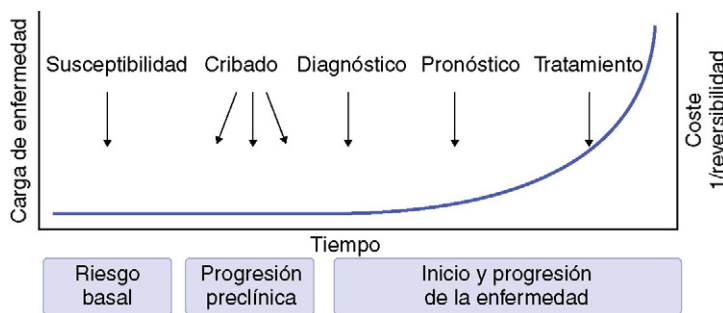
A lo largo del continuum de la salud a la enfermedad (que se muestra en la fig. 42.1), hay en la actualidad varios puntos relevantes en la toma de decisiones clínicas para los que se están aplicando las tecnologías moleculares a la asistencia sanitaria (tabla 42-1). Hoy en día se pueden cuantificar las estimaciones del riesgo de desarrollar algunas enfermedades cuando una persona está sana, e incluso al nacimiento, utilizando métodos basados en el ADN. Las firmas moleculares de las plataformas tecnológicas que miden la expresión del genoma (ARN, proteínas, metabolitos) permiten en la actualidad intervenir a nivel del individuo definiendo estados fisiológicos en respuesta a nuestro entorno que predigan los resultados clínicos futuros. Estos métodos también pueden proporcionar formas más precisas de realizar un cribado y de detectar las enfermedades en sus manifestaciones moleculares más precoces. De forma similar, constituyen la base de una nueva clasificación molecular de las enfermedades y del diagnóstico que permita predecir el pronóstico. En la actualidad, la selección de ciertos fármacos puede guiarse por la dotación genética subyacente de un paciente, así como por la constitución molecular de la enfermedad. Debido a que la evolución de una enfermedad a partir del riesgo basal suele producirse a lo largo de muchos años, la determinación del perfil molecular a lo largo del tiempo define una nueva forma de asistencia sanitaria que se centra en la prevención de la enfermedad y en un tratamiento proactivo en lugar de en el paradigma actual de intervención aguda y gestión de la crisis.

GENES, GENOMAS, ENFERMEDAD Y TRATAMIENTO

Una cuestión clave en medicina es determinar en qué medida la variación genética influye en la probabilidad de que se inicie una enfermedad, afecta a la historia natural de la enfermedad en combinación con el entorno, o proporciona pistas sobre el tratamiento de la enfermedad. Además, no es tan sólo el genoma humano el factor relevante para el estado de salud de una persona, sino que los genomas de miles de microorganismos son relevantes para los fenotipos humanos, y las nuevas informaciones de sus genomas están proporcionando estrategias novedosas para el diagnóstico, estudio y tratamiento de las enfermedades (v. Microbioma).

Variación en el genoma humano

En la actualidad, se estima que dos personas cualesquiera escogidas al azar tienen unas secuencias idénticas en un 99,5%, o que el genoma de una persona sería heterocigótico



Fuentes de nuevos biomarcadores:

Genómica estable:	Pruebas dinámicas
• Polimorfismos de nucleótido único (SNP)	• Expresión génica
• Mapeo de haplotipos	• Proteómica
• Secuenciación génica	• Metabolómica
	• Pruebas de imagen moleculares
	• Modelos de riesgo clínico

FIGURA 42-1. Uso de las tecnologías moleculares en el continuum de la salud a la enfermedad. Se pueden utilizar varias tecnologías moleculares para complementar el enfoque tradicional con el fin de evaluar en los momentos indicados. SNP = polimorfismo de nucleótido único. (Adaptada de Snyderman R. The role of genomics in enabling prospective health care. En: Willard H, Ginsburg G, editores. *Genomic and Personalized Medicine*. Burlington, Mass: Elsevier; 2009:378-385.)

en alrededor de 15-25 millones de posiciones. La mayoría de las diferencias implica a una única base en el código de ADN, en lo que se denominan polimorfismos de nucleótido único (SNP por su acrónimo inglés). El resto de la variación se debe a inserciones o deleciones de segmentos de secuencia corta, así como a variación del número de copias (CNV) en el número de elementos repetidos en un locus concreto del genoma. Estos tipos de variación pueden influir en la enfermedad y deben tenerse en cuenta a la hora de intentar comprender la contribución de la genética a la salud del ser humano.

Estudios de asociación hologenómicos

La hipótesis de «alelo común, enfermedad común» se ha evaluado con un éxito notable en muchas enfermedades, utilizando cohortes extensas de pacientes con un fenotipo bien estudiado y métodos de alto rendimiento para determinar el genotipo de hasta 1 millón de variantes en el genoma. Los estudios de asociación hologenómicos (EAHG) informan de la asociación estadística de una o más variantes en una región genómica estrecha con la presencia o ausencia de la enfermedad clínica. Los SNP descritos definen los factores de riesgo para dicha enfermedad, al menos en las poblaciones estudiadas, y pueden proporcionar nuevos datos sobre la biología de la enfermedad. Hasta diciembre de 2010, se había descrito que más de 3.500 SNP estaban asociados con más de 50 fenotipos en los estudios publicados (www.genome.gov/gwastudies/). Hay que subrayar que, en la mayoría de los casos, la causalidad del SNP descrito y el aumento del riesgo no se han demostrado, puede que la variante causal real no sea el propio SNP, sino una variante aún no detectada que subyace en el desequilibrio de ligamiento con el SNP. En la mayoría de los casos, el impacto funcional del SNP asociado no está claro, y requerirá la integración de estudios genómicos y funcionales para dilucidar las bases precisas de los papeles que desempeña la variación genómica en la enfermedad.

Resecuenciación médica

La resequeñación de genes específicos en una cohorte de personas afectadas con una enfermedad es un enfoque alternativo o complementario a los EAHG para descubrir variantes raras responsables de la enfermedad en cuestión. Puede que estas variantes más raras sean responsables de la mayor parte del riesgo genético, pero no se dispone de los datos suficientes para extraer conclusiones. La mayoría de los esfuerzos se han centrado en uno o varios genes que se consideran candidatos firmes para explicar el fenotipo estudiado. Con este método, se han detectado variantes raras en genes candidatos relevantes con una frecuencia mayor y significativa desde el punto de vista estadístico en los genomas de pacientes con enfermedades clínicas frecuentes. Estos éxitos iniciales sugieren una estrategia de resequeñación de los genes relevantes en personas situadas en los extremos de la distribución poblacional para los rasgos medibles.

Mutaciones somáticas

El uso de la resequeñación médica para la búsqueda de mutaciones somáticas en tejido tumoral ha sido útil para identificar genes potencialmente relevantes para la progresión del cáncer. El Cancer Genome Atlas (<http://cancergenome.nih.gov/index.asp>), iniciado en 2006, ha comenzado a explorar de forma sistemática todo el espectro de cambios genómicos en cánceres humanos y ya se han publicado sus primeros resultados para el glioblastoma. Los genes implicados en estos estudios tienden a ser diferentes de los que se habían identificados como factores de riesgo hereditarios en los estudios genéticos previos y proporcionan nuevos datos sobre la biología del cáncer humano, además de sugerir candidatos para explorar los mecanismos de la oncogénesis o metástasis, así como para el desarrollo de estrategias terapéuticas.

Variación del número de copias

Se ha encontrado una prevalencia imprevista de variantes estructurales en el genoma que, en conjunto, explican un mayor grado de variación de la secuencia genómica que la correspondiente a los SNP. Los tipos más frecuentes de variaciones estructurales son las CNV. Se está llevando a cabo un esfuerzo para catalogar las CNV en el genoma humano y para asociarlas con fenotipos clínicos. Aunque la mayoría de las CNV son hereditarias, algunas se producen de novo o incluso en las células somáticas; en estos casos, una persona tendrá longitudes de repetición diferentes que cualquiera de sus progenitores. Las CNV pueden contribuir a la aparición de enfermedades humanas al menos de dos formas:

1. Las CNV *patógenas* son algunos desequilibrios genómicos que parecen causar directamente enfermedades del neurodesarrollo. Las CNV patógenas suelen producirse de novo y se han asociado con desequilibrios genómicos específicos, de los que se han descrito hasta 50 síndromes genéticos (www.sanger.ac.uk/PostGenomics/decipher/).
2. Las CNV *benignas* se han identificado en personas sanas y pueden tener consecuencias más sutiles sobre la salud humana.

Epigenética y epigenoma

Los cambios epigenéticos (metilación del ADN o de la modificación de las histonas a lo largo del tiempo) en el genoma pueden producir una expresión génica aberrante

TABLA 42-1 APLICACIÓN DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR A LO LARGO DEL CONTINUUM DE LA SALUD A LA ENFERMEDAD: EJEMPLOS

MOMENTO EN LA TOMA DE DECISIONES CLÍNICAS	Cáncer		Enfermedad cardiovascular	
	Prueba	Indicación	Prueba	Indicación
Riesgo/susceptibilidad	BRCA1, BRCA2	Mama	KIF6, 9p21	AC
	HNPCC	Colon	Perfil génico Familion 5	SQTL
	TP53, PTEN	Sarcomas		
Cribado	Genotipos del VPH	Cervical	Corus AC	AC
Diagnóstico	Pathwork Tissue of Origin	Cáncer de primario desconocido	Corus AC	AC
Pronóstico	Oncotype DX (análisis de 21 genes)	Mama	TnI, BNP, CRP	SCA
	MammaPrint (análisis de 70 genes)			
	HER2/neu, RE, RP			
Farmacogenómica	HER2/neu	Herceptina	KIF6, SLCO1B1 AmpliChip;	Estatinas
	UGT1A1	Irinotecan	DMET CYP2D6/CYP2C19	Varios (v. tabla 42-2)
	KRAS	Cetuximab		
	EGFR	Erlotinib, gefitinib	VKORC1	Warfarina
	AmpliChip; DMET CYP2D6/CYP2C19	Varios (v. tabla 42-2)		
Monitorización	CTC	Recidiva o progresión tumoral	Perfil génico AlloMap	Rechazo de trasplante

AC = arteriopatía coronaria; BNP = Péptido natriurético cerebral; CRP = proteína C reactiva; CTC = células tumorales circulantes; RE = receptor estrogénico; RP = receptor de progesterona; SCA = síndromes coronarios agudos; SQTL = síndrome de QT largo; TnI = troponina I; VPH = virus del papiloma humano.

y enfermedades humanas en respuesta a influencias ambientales. En las últimas dos décadas, ha quedado claro que los cambios epigenéticos (metilación) desempeñan un papel crucial en la oncogénesis. Se están realizando investigaciones similares sobre la metilación del ADN en otras enfermedades, sobre todo autoinmunitarias y cardiovasculares. Por ejemplo, la presencia de ADN hipometilado de forma aberrante en la circulación en el lupus eritematoso sistémico (LES) (cap. 274) podría inducir una respuesta inmunitaria debido a su similitud con los ADN no metilados de los microorganismos. Otras contribuciones de una metilación defectiva a la patogenia del LES podrían deberse a la transcripción de retrovirus endógenos o al aumento de la expresión de ciertos genes relacionados con la autorreactividad. En las enfermedades cardiovasculares, se ha observado una hipometilación global del ADN y una hiperhomocistinemia coexistente. En conjunto, estos datos refuerzan el concepto de que los perfiles de metilación pueden ser muy útiles para estudiar la patogenia de diversas enfermedades. Los National Institutes of Health han iniciado el Human Epigenome Project, con el objetivo de identificar, catalogar e interpretar los patrones generalizados de metilación del ADN de todos los genes humanos en todos los tejidos principales; en la actualidad, esta tarea se ha expandido a nivel internacional.

Microbioma

Se han determinado las secuencias genómicas de miles de microorganismos y se están utilizando para proporcionar pruebas diagnósticas rápidas en contextos clínicos, para predecir la eficacia de los antibióticos o antifúngicos, para identificar la fuente de los contaminantes transmitidos por el aire, agua o suelo, para monitorizar los entornos hospitalarios o comunitarios y para comprender mejor la contribución de los ecosistemas microbianos y diversas exposiciones ambientales a varios fenotipos humanos. Por ejemplo, el colon del ser humano contiene más de 400 especies bacterianas que comprenden en algunos casos 10^{13} - 10^{14} microorganismos. El tubo digestivo (así como otras cavidades corporales y la piel) proporciona un ambiente único para los microorganismos, el microbioma, cuyo impacto sobre la salud y la enfermedad humanas está empezando a estudiarse. Los genomas de la microbiota son muy diferentes del genoma humano y tienen la capacidad de alterar el perfil metabólico de distintos individuos o de diferentes poblaciones, con efectos significativos desde el punto de vista clínico sobre el metabolismo, la toxicidad y la eficacia de los fármacos. Las aplicaciones de los métodos genómicos a los microbiomas están revolucionando el diagnóstico clínico, por ejemplo, para identificar infecciones virales desconocidas o para diagnosticar la resistencia a los antibióticos en infecciones como la causada por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Varias enfermedades se han asociado con desequilibrios a gran escala en el microbioma intestinal, como la enfermedad intestinal inflamatoria, la diarrea resistente a antibióticos y la obesidad.

Genómica personal

La obtención de información a partir de los genomas individuales es un área rápidamente cambiante de desarrollos tecnológicos que está generando una revolución social y de información entre los consumidores. Las mejoras drásticas en la tecnología de secuenciación han reducido el coste y el tiempo de los proyectos de resecuen-

ciación para llegar a la cifra largamente esperada de «1.000 dólares» por genoma individual. Lo que aún está por determinar es el grado de vigilancia genómica que será más útil, tanto para la investigación como para la práctica clínica. El impulso para incorporar la información genómica en la práctica clínica puede provenir tanto de los consumidores como de los profesionales. Varias compañías ofrecen perfiles de SNP hologenómicos al público, algunos de ellos con estimaciones de riesgo asociadas para enfermedades clínicas relevantes. Hay que desarrollar una agenda de investigación clara y relevante en conjunto con estos avances tecnológicos que permita a los profesionales sanitarios y al público comprender la información y, lo que es más importante, creer que es precisa, informativa y viable. Dada la gran cantidad de información que contiene la secuencia del genoma humano, será fundamental que se lleve a cabo una lectura, interpretación y comunicación adecuadas de la misma. Esta tecnología puede ser una fuente de desestabilización en la asistencia sanitaria, al proporcionar información sobre la salud y el riesgo de padecer enfermedades a los consumidores sin la intervención y la orientación de los médicos. Los pacientes ya están llevando informes de estos análisis a sus profesionales sanitarios y solicitándoles orientación, ante lo que surge la pregunta de qué van a decirles aquellos médicos que sólo cuentan con una formación limitada en genómica.

Farmacogenética

La variación del ADN que se asocia con la respuesta a los fármacos se denomina *farmacogenética*. En la actualidad existen muchos ejemplos de terapias guiadas a nivel molecular que utilizan análisis de ADN (e-Tabla 42-1). Para ayudar a los clínicos en la práctica de la farmacogenética con un gran número de fármacos, en 2003 se comercializó el primer chip génico basado en micromatriz, que se aprobó tanto en Estados Unidos como en la Unión Europea, denominado AmpliChip CYP450. Este producto estaba diseñado para identificar polimorfismos génicos clave en dos enzimas del CYP450, CYP2D6 y CYP2C19, que en conjunto son responsables de gran parte del metabolismo de primer paso de muchos fármacos que se prescriben en la actualidad. Las agencias reguladoras autorizaron esta prueba basándose sólo en el rendimiento analítico y en la información sobre su validez, pero indicaron que debía demostrarse su utilidad específicamente para la aplicación clínica. Por tanto, los clínicos aún no tienen claro el impacto de estas pruebas sobre las directrices de toma de decisiones clínicas.

Es probable que el mejor ejemplo de asociación farmacogenética para el que la relevancia clínica está clara sea el control del tratamiento con warfarina. El anti-coagulante oral warfarina (cap. 37) se prescribe para el tratamiento y prevención a largo plazo de las complicaciones tromboembólicas, con más de 31 millones de prescripciones anuales sólo en Estados Unidos. Sin embargo, debido al estrecho índice terapéutico de este fármaco, hay varias complicaciones que se asocian con su tratamiento, incluso tras el ajuste de dosis según la edad, sexo, peso, estado patológico, dieta y fármacos simultáneos. La investigación de las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas del fármaco indicó la afectación aditiva de dos genes a la hora de determinar la dosis de mantenimiento de warfarina. Uno de estos genes codifica la enzima CYP2C9, que es responsable de la mayor parte del aclaramiento metabólico

(alrededor del 80%) del enantiómero S de la warfarina, que es el más potente desde el punto de vista farmacológico. Tanto *CYP2C9*2* como **3* disminuyen el aclaramiento de la warfarina, de modo que se observa una variación de 10 veces entre el genotipo relacionado con la máxima actividad (*CYP2C9*1/*1*) y el asociado a la mínima (*CYP2C9*3/*3*). Se estima que las variantes de *CYP2C9* suponen el 10-20% de toda la variación de la dosis de warfarina, mientras que otros factores genéticos y ambientales desempeñan papeles más amplios en la determinación de la dosis. El segundo gen es la proteína 1 del complejo vitamina K epóxido reductasa (*VKORC1*), sobre la que actúa la warfarina. Si se tiene en cuenta el genotipo *VKORC1*, junto con el genotipo *CYP2C9* y otros factores como la edad y el tamaño corporal, se estima que puede explicarse el 35-60% de la variabilidad de necesidades posológicas de warfarina. Aunque se están realizando más estudios, el comité asesor sobre farmacología clínica de la Food and Drug Administration (FDA) estadounidense ha reconocido la relevancia y el potencial de la genotipificación de *CYP2C9* y *VKORC1* durante la fase inicial del tratamiento con warfarina, y el prospecto del fármaco se modificó en consonancia en agosto de 2007; sin embargo, el Center for Medicare and Medicaid Services anunció en 2009 que no reembolsaría los análisis hasta que se dispusiese de más evidencia de su beneficio clínico.

EL GENOMA EXPRESADO

Expresión génica

La información de la expresión (del ARN, proteínas o metabolitos) ofrece datos sobre tres áreas referentes a la toma de decisiones clínicas:

- Diagnóstico y clasificación de las enfermedades
- Pronóstico de las enfermedades
- Farmacogenómica

Diagnóstico y clasificación de las enfermedades

Los datos de la expresión hologenómica del ARN se pueden utilizar para identificar subtipos de cáncer que no se han detectado previamente con los métodos tradicionales de análisis (tabla 42-2). Entre los numerosos ejemplos que pueden citarse, los patrones de la expresión del ARN han identificado subclases de tumores que diferencian las leucemias agudas o el linfoma de Burkitt respecto a los linfomas B difusos de células grandes (LBDCG). El estudio del perfil del cáncer de mama ha definido cuatro subtipos de expresión génica diferente; estos subtipos definidos a nivel molecular tienen una relevancia pronóstica significativa. Aparte del cáncer, la tecnología de micromatrices del ADN complementario ha resultado ser útil para clasificar una amplia gama de enfermedades, como la artritis reumatoide, la enfermedad

de Crohn, la esquizofrenia y la esclerosis múltiple, así como para diferenciar entre la miocardiopatía isquémica y no isquémica.

Pronóstico de la enfermedad

La primera aplicación pronóstica de las firmas de expresión génica han descrito dos formas distintas desde el punto de vista molecular del LBDCG que previamente no se habían definido con las técnicas histopatológicas tradicionales: el LBDCG similar al linfoma B de centros germinales y el LBDCG similar al linfoma B activado. Su relevancia clínica se debe a que los pacientes con un LBDCG similar al linfoma B de centros germinales tienen una supervivencia global mucho mejor cuando se tratan con la quimioterapia estándar. De forma similar, los estudios de micromatrices del cáncer de mama han demostrado ser más potentes que los métodos tradicionales para predecir el pronóstico del paciente, como el tamaño tumoral, el estado de los ganglios linfáticos y el estado del receptor de estrógenos; por ejemplo, se ha observado que una firma de expresión génica de 70 genes es un factor predictivo sólido de metástasis, superando a todos los factores predictivos clínicos usados en la actualidad.

En 2009, los oncólogos usaron las firmas de expresión de ARN (Oncotype DX) para la estratificación del riesgo y el pronóstico en más de 40.000 pacientes con cáncer de mama y ordenaron de forma acumulada más de 135.000. Un ensayo clínico prospectivo de un grupo cooperativo realizado en Europa (MINDACT) pretende medir la eficacia de un factor predictivo de la expresión génica del cáncer de mama para guiar la quimioterapia adyuvante en comparación con las predicciones basadas sólo en los parámetros clínicos tradicionales para el pronóstico. Un estudio actual patrocinado por el National Cancer Institute pretende utilizar el análisis Oncotype DX de Genomic Health, Inc. para identificar a las pacientes con cáncer de mama de bajo riesgo que tengan pocas probabilidades de beneficiarse de la quimioterapia. Para el cáncer de pulmón, en la actualidad existe una oportunidad similar para perfeccionar el pronóstico y redirigir el tratamiento en los estadios precoces de la enfermedad y se ha puesto en marcha un ensayo clínico que utiliza esta firma para distribuir de forma aleatoria a las pacientes a la hora de recibir tratamiento quirúrgico con o sin quimioterapia adyuvante.

Farmacogenómica

El uso de información molecular compleja del genoma (a diferencia de la variación del ADN) suele denominarse *farmacogenómica*. (Como se ha descrito antes, la *farmacogenética* se refiere a las respuestas individuales a los fármacos en función de la variación del ADN). El genoma expresado ha proporcionado varios ejemplos des-

TABLA 42-2 FIRMAS DE EXPRESIÓN GÉNICA EN SANGRE PERIFÉRICA PARA CLASIFICAR LOS ESTADOS PATOLÓGICOS

	CÉLULA DIANA	RESULTADOS	CAPÍTULO
Autoinmunitaria	ARN en sangre completa	Una firma de 41 genes diferencia a los pacientes que responden o no al infiximab .	35
	ARN en sangre completa	Una firma de 29 genes diferencia mejor entre las formas activas o inactivas de lupus eritematoso sistémico .	274
Inflamatoria	Monocitos periféricos	Una firma de 53 genes distingue entre pacientes con esclerosis múltiple activa y los controles sanos.	419
	Monocitos periféricos	Una firma de 136 genes distingue a los pacientes con esclerosis múltiple activa que reciben TNF- α de los pacientes que nunca han recibido tratamiento.	419
	ARN en sangre completa	Una puntuación compuesta basada en 10 genes para el diagnóstico de atopia y asma ofrece mejores resultados que el recuento de IgE total, con una sensibilidad y especificidad del 96 y 92%, respectivamente.	257
Neoplasia	Linfocitos B CD27 ⁺ y CD19 ⁺ ; linfocitos T CD4 ⁺	Una firma de 2.984 genes puede distinguir los subtipos de linfoma B difuso de células grandes .	191
	ARN en células mononucleares de médula ósea	Una firma de 50 genes muestra una correlación elevada con la distinción entre LMA-LLA y se usa para desarrollar un esquema de clasificación.	189
	ARN en células blásticas CD34 ⁺	Una firma de 2.856 genes permite la clasificación de la LMA en 16 grupos distintos.	189
Trasplante	ARN de linfocitos CD4 ⁺ y CD8 ⁺	Una firma de 17 genes identifica las muestras donantes con probabilidad de causar EICH con un 80% de precisión.	181
	ARN en sangre completa	Una firma de 91 genes distingue entre el rechazo del trasplante (grado 3A) y los controles (grado 0).	48
Exposición ambiental	ARN en sangre completa	Un perfil de 216 genes diferencia la lesión oxidativa de la lesión oxidativa activa en fumadores activos y pasivos.	31
	ARN en sangre completa	Un perfil de 62 genes se correlaciona con la gravedad de la intoxicación por arsénico .	21
	ARN en sangre completa	Una firma de 25 genes identifica la exposición a la radiación ionizante con una precisión global del 90%.	19
Enfermedad cardiovascular	ARN en plaquetas	Una firma de 54 genes clasifica el IMEST y la AC estable . Además, el nivel de MRP8/14 predice el riesgo de un episodio cardiovascular futuro.	71, 73
	ARN en sangre completa	Una firma de 160 genes se correlaciona con la magnitud de la estenosis coronaria y se asocia con la enfermedad vascular aterosclerótica.	70
	ARN en sangre completa	Una firma de 14 genes confirmada por PCR se asocia con la presencia y magnitud de la AC .	71

AC = arteriopatía coronaria; EICH = enfermedad del injerto contra el huésped; IgE = inmunoglobulina E; IMEST = infarto de miocardio con elevación del ST; LLA = leucemia linfoblástica aguda; LMA = leucemia mielógena crónica; PCR = reacción en cadena de la polimerasa; TNF = factor de necrosis tumoral.

Adaptada de Aziz H, Zaas A, Ginsburg G. Peripheral blood gene expression profiling for cardiovascular disease assessment. *Genomic Med.* 2007;1:105-112.

TABLA 42-3 TRATAMIENTOS ANTIONCOLÓGICOS ORIENTADOS POR UN MARCADOR MOLECULAR (TRATAMIENTOS DIRIGIDOS)

BIOMARCADOR	FÁRMACO	TIPO DE CÁNCER	EFEECTO DEL FÁRMACO	ETIQUETADO DEL FÁRMACO RECOMENDADO O REQUERIDO POR LA FDA
Receptor de estrógenos	Tamoxifeno	Mama	Respuesta	Sí
HER2/neu	Trastuzumab	Mama	Respuesta	Sí
EGFR	Cetuximab	Colorrectal	Respuesta	Sí
Kras	Cetuximab	Colorrectal	Respuesta	Sí
EGFR	Panitumumab	Colorrectal	Respuesta	Sí
Kras	Panitumumab	Colorrectal	Respuesta	Sí
DPYD	5-FU	Mama/colorrectal	Respuesta	No
EGFR	Erlotinib	Pulmón	Respuesta	No
EGFR	Gefitinib	Pulmón	Respuesta	No
BCR-ABL	Imatinib	LMC	Respuesta	Sí
C-KIT	Imatinib	LMC/LLA	Respuesta	Sí

5-FU, 5-fluorouracilo; DPD = dihidropirimidina deshidrogenasa; EGFR = receptor del factor de crecimiento epidérmico; LLA = leucemia linfocítica aguda; LMC = leucemia mieloide crónica.

Adaptada de Freedman A, Sansbury L, Figg W, y cols., Cancer pharmacogenomics and pharmacoepidemiology: setting a research agenda to accelerate translation. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102:1698-1705.

tacados de biomarcadores novedosos que se pueden utilizar para orientar la selección del tratamiento. Una forma icónica de farmacogenómica es el «tratamiento dirigido», del que ahora existen varios ejemplos en la práctica clínica (e-Tabla 42-1 y tabla 42-3). El tratamiento con trastuzumab (un anticuerpo monoclonal dirigido específicamente contra los tumores de mama que sobreexpresan el gen *HER2/neu*) es un ejemplo de tratamiento proteico para el que se han desarrollado un análisis de biomarcador obligatorio y una prueba diagnóstica con el fin de identificar a las pacientes con más probabilidades de beneficiarse de este fármaco. El trastuzumab se comercializa sólo para el subgrupo de pacientes (alrededor del 10%) que sobreexpresan el gen *HER2/neu* (cap. 204). Debido a la baja prevalencia de cánceres de mama con marcadores positivos, se ha sugerido que si no hubiera sido por el uso del marcador diagnóstico, el fármaco no se habría desarrollado con éxito. En medicina cardiovascular, se ha empleado durante más de una década una estrategia dirigida para los síndromes coronarios con el uso de las mediciones de troponina I cardíaca (TnI) para determinar el uso beneficioso de los inhibidores de la glucoproteína IIb/IIIa.

Recientemente se ha desarrollado una serie de firmas de expresión génica para predecir el estado de activación de varias vías de señalización oncogénica, lo que auspicia la aparición de tratamientos antioncológicos personalizados basados en el patrón de expresión génica del tumor. Cuando se evalúan en varios grupos extensos de cánceres humanos, estas firmas de expresión génica identifican patrones de desregulación de vías en tumores, así como asociaciones relevantes desde el punto de vista clínico en cuanto al resultado de la enfermedad, incluido el pronóstico. La asociación de la desregulación de las vías con la sensibilidad al tratamiento que se dirige a los componentes de dicha vía proporciona una oportunidad para utilizar estas «firmas oncogénicas» con el fin de guiar el uso de los tratamientos dirigidos.

Proteómica

La proteómica es el estudio de las proteínas a gran escala. El *proteoma* suele referirse al complemento completo de proteínas y de sus diversos derivados (p. ej., variantes de corte y empalme o modificación postraduccional). En el contexto de la salud y la enfermedad, la proteómica trata de definir el conjunto completo de proteínas asociadas con un estado fisiológico concreto. Las capacidades y dirección de la proteómica están evolucionando en términos de identificación y expresión diferencial de proteínas entre dos estados fisiológicos (como la salud y una enfermedad específica). La proteómica cuantitativa, en la que se miden las diferencias globales en cuanto a abundancia de proteínas, sigue siendo un área prioritaria para el descubrimiento de biomarcadores y para la medicina molecular. Esta área ha estado dominada por métodos de isótopos estables, pero se han desarrollado métodos cuantitativos recientes sin marcado que se basan en la intensidad medida de un ión peptídico, que se compara con su intensidad en otras muestras. Los métodos sin marcado tienen la ventaja de un mayor rendimiento y menos pasos de manipulación de muestras. La monitorización de reacción múltiple de péptidos específicos en los biofluidos permite cuantificar la abundancia absoluta de proteínas en muestras clínicas. Aunque esta tecnología está a un nivel relativamente inmaduro en sus aplicaciones para la salud y enfermedad humanas en comparación con el estudio del perfil de ARN y metabólico, es previsible que estos métodos, combinados con el desarrollo de la tecnología de espectroscopia de masas, hagan avanzar la proteómica hasta un uso más rutinario en la clasificación y diagnóstico, pronóstico y farmacogenómica de las enfermedades en los próximos años.

Perfil metabólico

Un perfil metabólico es muy similar a algunos de los perfiles dirigidos tradicionales, como el perfil lipídico, aunque es más exhaustivo. La metabolómica mide los cambios en el medio metabólico o químico que son posteriores a las alteraciones genómicas y proteómicas. Se estima que el ser humano contiene alrededor de 5.000 metabolitos diferentes de molécula pequeña, y la identificación de las huellas dactilares metabólicas de cada enfermedad concreta puede tener una utilidad práctica específica para el desarrollo de tratamientos, porque los cambios metabólicos sugieren de inmediato objetivos farmacológicos enzimáticos. A semejanza de la genómica y la proteómica, la metabolómica puede ser útil en el diagnóstico, pronóstico y desarrollo farmacológico en determinadas enfermedades. En especial, es probable que la metabolómica sea una herramienta útil para evaluar la toxicidad farmacológica. La determinación de perfiles metabólicos basada en espectroscopia de masas dirigida también se ha aplicado cada vez más en los estudios de enfermedades y trastornos del ser humano. Estas herramientas se están aplicando en diversas áreas, como la diabetes, la obesidad, las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y las enfermedades mentales.

COMBINACIÓN DE LA INFORMACIÓN MOLECULAR PARA LA TOMA DE DECISIONES CLÍNICAS

A pesar del potencial que tiene la información molecular para transformar la asistencia sanitaria, la experiencia previa indica que las nuevas intervenciones moleculares, al igual que cualquier nueva intervención médica, permanecerán infrautilizadas en gran medida durante muchos años hasta que se establezca una infraestructura sólida para respaldar su utilización adecuada. Además, las intervenciones moleculares pueden enfrentarse a barreras aún mayores a su adopción clínica en comparación con las intervenciones médicas más tradicionales, debido a factores como una familiaridad limitada de los clínicos con las tecnologías moleculares, el volumen y la complejidad de los datos subyacentes que puede ser necesario tener en cuenta y la cobertura económica de pruebas adicionales en un sistema sanitario que ya pasa por dificultades financieras.

De las muchas estrategias que se han evaluado para fomentar la medicina basada en la evidencia, se ha encontrado una estrategia que es especialmente eficaz: el apoyo a las decisiones clínicas (ADC), que implica proporcionar a los clínicos, pacientes y otros implicados en el ámbito de la asistencia sanitaria los conocimientos pertinentes o la información específica para cada persona, filtrada de un modo inteligente o presentada en el momento adecuado, con el fin de mejorar la salud y la asistencia sanitaria. Las intervenciones de ADC dirigidas a los médicos que se han evaluado en ensayos clínicos aleatorizados y controlados han mejorado de forma significativa la asistencia al paciente, siempre que la ADC se haya llevado a cabo de forma automática como parte del flujo de trabajo clínico, ofrecida en el momento y en la localización de la toma de decisiones, que haya recomendado un curso de acción específico y que haya usado un ordenador para generar las recomendaciones.

Cuando se extiende a la medicina molecular, la ADC respalda su aplicación homogénea y basada en la evidencia en la asistencia sanitaria. Por ejemplo, cuando se inicia un tratamiento con warfarina usando un sistema de prescripción electrónico, un clínico podría recibir unas recomendaciones sobre la posología y la monitorización que tuviesen en cuenta los genotipos *CYP2C9* y *VKORC1* del paciente. En otro

TABLA 42-4 REQUISITOS DE APOYO A LAS DECISIONES CLÍNICAS PARA APLICAR LAS TECNOLOGÍAS MOLECULARES EN LA MEDICINA CLÍNICA

NECESIDAD	RECURSOS DISPONIBLES
Depósitos de conocimientos médicos gestionados a nivel central	Conocimiento autorizado sobre el modo en el que las intervenciones moleculares deberían utilizarse en la práctica clínica (p. ej., U.S. Preventive Services Task Force, U.S. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention initiative) Depósitos de datos estructurados experimentales genómicos y moleculares (p. ej., PharmGKB para los datos experimentales farmacogenéticos y farmacogenómicos, así como para el conocimiento organizado; NCBI dbGaP para los datos de estudios que evalúen la interacción entre genotipos y fenotipos; así como NCBI GEO para los datos de expresión génica) Esfuerzos a gran escala para la gestión de la información médica en los sistemas sanitarios (Intermountain Healthcare, Partners HealthCare)
Representación estandarizada de los datos moleculares y de los pacientes	Terminologías estandarizadas de la información para los datos de los pacientes tanto moleculares como tradicionales (p. ej., estándar de datos HL7, incluidos los estándares de datos HL7 Clinical Genomics, y el nuevo estándar de la historia clínica virtual H7; openEHR Archetypes; SNOMED CT; LOINC; BSMML; MAGE-ML; National Cancer Institute/caBIG Common Data Elements)
Métodos estándar para localizar y recuperar los datos de los pacientes y moleculares	Métodos para localizar y recuperar los datos de los pacientes en los distintos sistemas (p. ej., el estándar preliminar HL7 Retrieve, Locate, and Update Service y la especificación técnica correspondiente OMG) Iniciativas regionales y nacionales para el intercambio seguro de datos sanitarios (p. ej., U.K. National Health Service Connecting for Health, U.S. Nationwide Health Information Network prototypes, caBIG, Indiana Health Information Exchange)
Compartir y coordinar la información	Iniciativas para compartir conocimientos médicos (p. ej., Morningside Initiative, U.S. Federal CDS Collaboratory) Esfuerzos para especificar los requisitos funcionales para los sistemas de HCE (p. ej., HL7 EHR System Functional Model standard) Uso coordinado de los estándares de la tecnología sanitaria disponibles (p. ej., U.S. Health Information Technology Standards Panel, Integrating the Healthcare Enterprise)

BSML = Bioinformatic Sequence Markup Language; caBIG = cancer Biomedical Informatics Grid; dbGaP = database of Genotype and Phenotype; GEO = Gene Expression Omnibus; HCE = historia clínica electrónica; LOINC = Logical Observation Identifiers Names and Codes; MAGE-ML = lenguaje de marcado para micromatrices y expresión génica; NCBI = National Center for Biotechnology Information; PharmGKB = Pharmacogenomics and Pharmacogenetics Knowledge Base; SNOMED CT = Systematized Nomenclature of Medicine, Clinical Terms.

Adaptada de Kawamoto K, Lobach D, Willard H, Ginsburg G. National clinical decision support infrastructure to enable the widespread and consistent application of genetics and genomics in healthcare.

PMCID: PMC2666673 2009;9:17.

ejemplo, para apoyar a un clínico en el tratamiento de una paciente con cáncer de mama, un sistema de historia clínica electrónica podría tener en cuenta el perfil de expresión génica de la biopsia del cáncer de la paciente y ofrecer una predicción individualizada del modo probable en el que la paciente responderá a las diversas opciones terapéuticas. Un aspecto fundamental para la visión de una medicina molecular apoyada en las tecnologías de la información será una infraestructura nacional de ADC (tabla 42-4) que permita un conocimiento experto y centralizado de la información molecular que pueda influir de forma homogénea en las prácticas clínicas en todo un país. La verdadera aplicación de las tecnologías moleculares requerirá unos sistemas de ADC sólidos que 1) accedan a los datos moleculares y de otro tipo de los pacientes localizados en la historia clínica electrónica, 2) evalúen e integren esta información en relación con las diversas normas y 3) ofrezcan la información de un modo que permita establecer unas recomendaciones viables en tiempo real para un paciente concreto.

LECTURAS RECOMENDADAS

Chadwick R. Personal genomes: no bad news? *Bioethics*. 2011;25:62-65. *Revisión exhaustiva de los efectos potenciales de la secuenciación hologenómica sobre las personas y sus vidas.*

Ginsburg GS, Willard HF, editors. *Genomic and Personalized Medicine*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2011. *Trabajo exhaustivo sobre el descubrimiento, la investigación traslacional, clínica y política, así como sobre la evidencia para guiar la información molecular y las tecnologías desde el laboratorio a la cabecera del paciente.*

43

TERAPIA CELULAR Y GÉNICA

KARL SKORECKI Y EITHAN GALUN

TERAPIA CELULAR

La terapia celular se refiere al suministro de células vivas a pacientes para la prevención y tratamiento de enfermedades humanas. La forma de terapia celular mejor establecida y que más se practica es la administración de sangre y hemoderivados como medicina transfusional. Otras aplicaciones emergentes de la terapia celular son el uso de células como vehículos para la aportación de genes o de productos génicos, como se comenta en la sección sobre terapia génica.

La medicina regenerativa es un campo en el que se administran células de distintas fuentes para aumentar, reparar o reemplazar tejidos u órganos lesionados por una enfermedad, lesión, o anomalía congénita. A este respecto, el trasplante de órgano sólido puede considerarse una forma de terapia celular. Al igual que la sangre o la transfusión de hemoderivados (cap. 180), dicho trasplante proporciona células completamente

diferenciadas, que reemplazan funciones del órgano trasplantado (cap. 48). Una de las limitaciones prácticas principales para el trasplante de órganos sólidos es la escasez de órganos disponibles con relación a la creciente demanda. En determinadas formas de fallo sistémico de un órgano, como la enfermedad neurodegenerativa, el trasplante de órgano no es una opción terapéutica. Por estas razones está progresando rápidamente el desarrollo de las terapias celulares seguras y eficaces.

Células madre de origen humano

Las células madre poseen dos propiedades definitorias: 1) la capacidad de autorrenovación y 2) la capacidad de diferenciarse en tipos celulares con funciones especializadas. Esto puede ocurrir a nivel de la célula madre individual mediante el proceso de división celular asimétrica (fig. 43-1), o a nivel de la población celular, en la que un subgrupo de células se diferencia y el resto de células madre permanecen quiescentes o se replican a sí mismas como células madre. Después de la división celular asimétrica, los derivados de las células no-madre pueden generar una reserva de células de un sistema de células amplificadoras en tránsito restringidas a un sistema orgánico con una mayor capacidad proliferativa, o pueden diferenciarse mediante cambios en el perfil de expresión epigenética y génica hasta alcanzar el estado diferenciado final. Este marco fue desarrollado tras el descubrimiento de que las células de la médula ósea eran capaces de reconstituir el sistema hematopoyético de los adultos. Estas células madre hematopoyéticas constituyen la base para el trasplante de células madre hematopoyéticas, la única forma de terapia celular empleada actualmente en la práctica clínica (cap. 181). Aparte de estas dos propiedades cardinales de autorrenovación y capacidad de diferenciación, las células madre también pueden clasificarse según tres atributos adicionales, que son la capacidad replicativa (limitada frente a ilimitada), el ámbito o potencia de diferenciación (p. ej., pluripotente, multipotente, oligopotente, unipotente) y su lugar en la historia vital del organismo (en el desarrollo o posterior al desarrollo). Por tanto, la terminología más reciente ha ampliado el uso del término *células madre* para cubrir un rango más amplio de tipos celulares que contribuyen al desarrollo de órganos o que tienen la capacidad de repoblar tejidos y sistemas orgánicos. El término *células madre*, junto con la formulación apuntada antes, también se ha extrapolado recientemente para describir ciertas subpoblaciones de células responsables básicamente del crecimiento de tumores malignos. Sin embargo, dado que las células madre del cáncer (cap. 185) no tienen ningún papel en la regeneración tisular, no se volverán a comentar en este capítulo.

Células madre embrionarias y pluripotentes inducidas

El huevo fecundado, o cigoto, se desarrolla primero como un blastocisto, después como un embrión y luego como un feto. El blastocisto es evidente al quinto día de la fecundación y está formado por 200-250 células, de las que 30-34 forman la masa interna celular o epiblasto. Las restantes células constituyen la masa celular externa (fig. 43-2). Después de que el blastocisto entero se fija a la pared del útero, comienza el desarrollo embrionario y extraembrionario. En la etapa de blastocisto, cada célula de la masa celular interna tiene la capacidad de diferenciarse en derivados