

De mismo modo que los minúsculos chips que contienen millones de transistores y diodos han hecho progresar la electrónica, los biochips de ADN están provocando una auténtica revolución que conduce directamente a la medicina personalizada. En el espacio de una uña se pueden realizar simultáneamente cientos de miles de test genéticos para ayudar a mejorar los diagnósticos e individualizar los tratamientos.

## Biochips para prevenir y curar mejor

GONZALO CASINO

Las pruebas genéticas han saltado de los centros de investigación a la calle y están presentes en las series de televisión, en las noticias, en Internet. El común de la gente ya sabe que con ellas es posible averiguar la paternidad, resolver una investigación criminal o conocer el riesgo de sufrir una enfermedad. Además, desde el año pasado han empezado a proliferar empresas que a través de Internet ofrecen servicios genéticos personales para, a partir de una muestra de saliva enviada por correo, aventurar el riesgo de padecer diferentes patologías o rastrear los antepasados.

Las aplicaciones médicas de las pruebas genéticas son inmensas y algunas ya se utilizan en los hospitales para problemas y casos muy concretos, como es el diagnóstico prenatal o de ciertas enfermedades hereditarias. Paradójicamente, una de las pruebas genéticas más potentes y fiables, los llamados biochips o micromatrices (*microarrays*) de ADN, no se han generalizado todavía en la práctica clínica, entre otras cosas porque antes es necesario demostrar en ensayos clínicos que funcionan y son beneficiosas para los pacientes.

Sin embargo, estas tecnologías que interrogan al ADN han madurado mucho en la última década y se prevé que pronto haya muchas novedades en el diagnóstico genético de enfermedades, en la predicción de la respuesta a los medicamentos y en la estimación del riesgo de desarrollar ciertas enfermedades o su evolución.

La clave de las pruebas genéticas es ésta: interrogar al ADN, la molécula que contiene cifrada en una larguísima frase todas las instrucciones de funcionamiento de un individuo y que es ligeramente diferente en cada persona. En esta frase, escrita con sólo cuatro letras (A, T, C, G) y que ocupa algo así como 1,5 millones de páginas (son 3.000 millones de pares de letras), está la respuesta a cuestiones como si uno es más o menos susceptible a la diabetes o a la calvicie, si responde mejor o peor a un tratamiento, o si tiene mayor o menor propensión a la adicción o a sufrir una depresión. El cambio de una sola letra, pongamos una C por una G, puede tener consecuencias desastrosas, aunque a menudo no ocurre nada. El reto es identificar las pequeñas o grandes variaciones y saber sus consecuencias.

Los *biochips* son una de las herramientas más ingeniosas para interrogar con miles de preguntas a la vez al ADN. En una pequeña plaquita, generalmente de vidrio y del tamaño de un dedo meñique, en la que se colocan en filas y columnas hasta un millón de secuencias genéticas conocidas, pueden realizarse miles de experimentos simultáneamente. Al cubrir este *biochip* que hace de patrón con el material genético de una

muestra, ya sea de tejido sano o de un tumor, las secuencias idénticas (complementarias, para ser exactos) de la placa y de la muestra se emparejan. Y se identifican porque están marcadas con fluorescencia: cuanto más brilla un punto, más genes o fragmentos emparejados hay.

La idea es tan sencilla como el juego de los barcos con decenas, centenares o millares de filas y columnas: cada punto brillante ("tocado") indica que hay emparejamiento genético en esa cuadrícula, mientras que en los puntos negros no lo hay ("agua"). De este modo es posible desde identificar las mutaciones presentes en un tumor hasta conocer qué genes están activos (expresados) en una célula sana.

"Toda condición, ya sea normal o patológica, puede dar lugar a cambios de expresión génica y, por tanto, es susceptible de ser estudiada con esta herramienta", explica Laura Sumoy, responsable de la Unidad de Microarrays del Centro de Regulación Genómica (CRG) de Barcelona. "De hecho, los *microarrays* se han utilizado para investigar los genes de todo tipo de enfermedades". Se puede diseñar un *biochip* que contenga, por ejemplo, todos los genes sospechosos de estar relacionados con el cáncer y luego hacer la prueba con infinidad de muestras de tumores para conocer qué genes están activos en cada tipo de tumor.

Esto es lo que han hecho desde 2001 y durante cinco años en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), en Madrid, con el llamado Oncochip, un *microarray* con más de 9.000 genes sospechosos. "Las 2.500 pruebas realizadas con diferentes tumores han generado numerosas publicaciones y mucho conocimiento, y han abierto nuevas líneas de investigación para aplicaciones clínicas", afirma Miguel Ángel Piris, director del Programa de Patología Molecular, en el CNIO. Una de ellas, dirigida por él, es el desarrollo de un nuevo *microarray* para predecir la respuesta al tratamiento en los linfomas de Hodgkin.

### Huellas genéticas

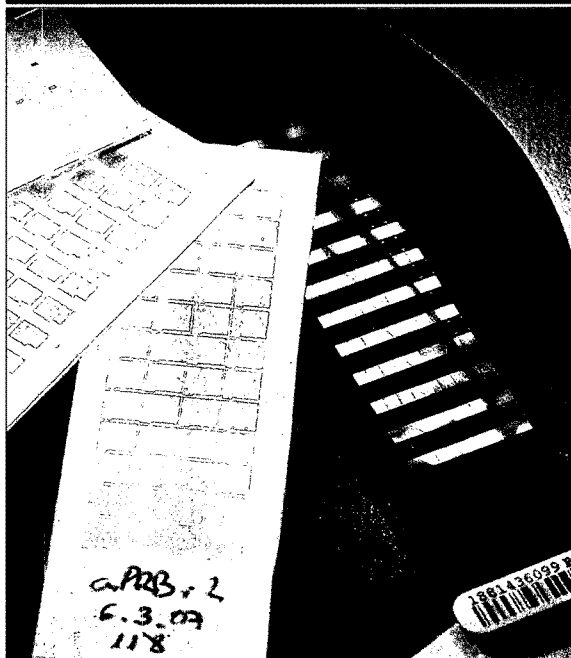
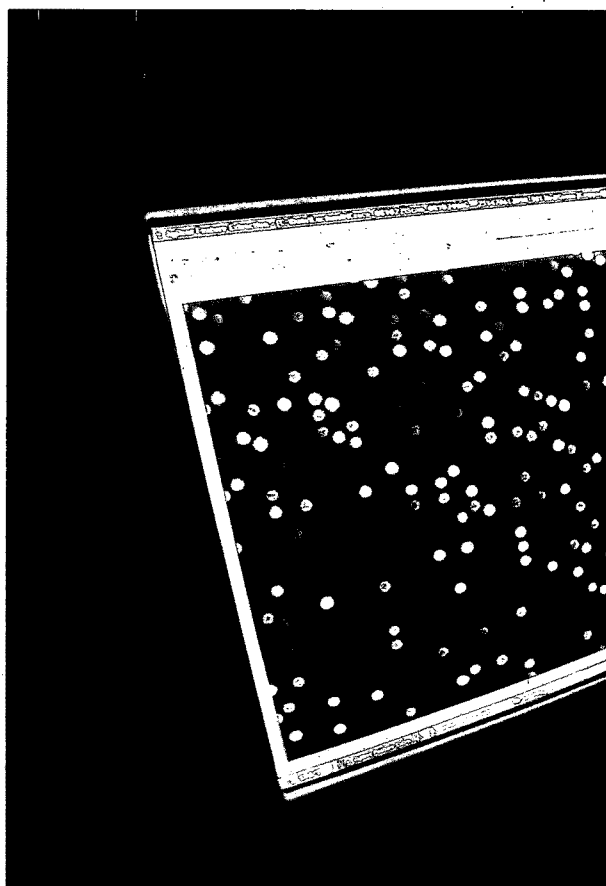
Los *microarrays* son una técnica ideal para descifrar la huella genética de un tumor, esto es, identificar exactamente qué genes están activados en ese tumor. Si se dispone de una huella genética más o menos aproximada, es posible luego predecir su evolución y orientar mejor el tratamiento. Pero esto no es nada fácil porque en el desarrollo de un cáncer puede haber implicados centenares de genes de los 22.000 a 23.000 que tiene el genoma humano.

El cáncer de mama es quizá el tumor para el que existen *microarrays* más fiables para predecir su evolución. En concreto hay disponibles dos *biochips*: el Mammaprint, de la empresa holandesa Agendia, que contiene muestras genéticas repre-

En una placa del tamaño de un dedo meñique se pueden hacer miles de tests genéticos

Con la huella genética de un tumor es posible predecir su evolución y orientar mejor su tratamiento

Los biochips comienzan a sustituir los tests genéticos clásicos del diagnóstico prenatal y forense



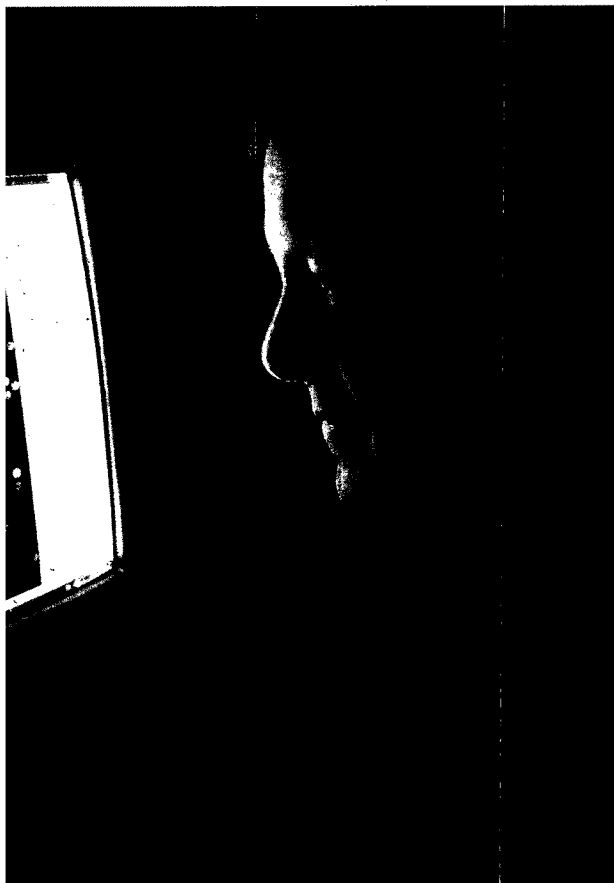
Varios biochips utilizados en investigación.

CONSUELO BAUTISTA

sentativas de 70 genes para anticipar si ciertos tumores de mama van a desarrollar metástasis o no, y el Oncotype DX, de la estadounidense Genomic Health, con muestras de 21 genes que parecen estar estrechamente relacionados con la extensión de tumores de mama en estadios iniciales y que posiblemente permitiría anticipar si una paciente se va a beneficiar o no de la quimioterapia.

Ambos tests ya han sido utilizados en miles de pacientes en el contexto de ensayos clínicos, pero distan

de ser pruebas definitivas y de utilidad clínica incontestable. De los dos, el Oncotype DX parece ser el más fiable y mejor validado, aunque el Mammaprint también ha sido aprobado por la Agencia del Medicamento de EE UU (FDA, en sus siglas en inglés) en 2007 para situaciones y pacientes muy concretas. "El Oncotype es más práctico, más simple, más robusto y fiable, y se ha utilizado con más de 40.000 pacientes, mientras que el Mammaprint tiene una concepción más académica y sólo puede



Lauro Sumoy, investigador del Centro de Regulación Genómica de Barcelona, ante una pantalla con los puntos fluorescentes de un biochip. CONSUELO BAUTISTA

utilizarse con muestras de tumor previamente congeladas", explica Piris.

En otros tipos de cáncer, como el de colon y algunos linfomas y leucemias, hay también diversos *microarrays* con diferentes huellas genéticas para caracterizar el tumor y predecir su evolución. En general, los *biochips* de expresión genética, es decir, los que detectan la activación de ciertos genes, apenas están introducidos en la práctica clínica o lo están de forma muy restringida y para grupos de pacientes muy concretos. "La información que generan los *microarrays* no es todavía lo suficientemente robusta como para modificar la asistencia médica", reconoce Elías Campo, director clínico del Centro de Diagnóstico Biomédico del hospital Clínico de Barcelona. "Antes tienen que demostrar su utilidad para los pacientes y conseguir la aprobación de las autoridades sanitarias, pero de momento se están acumulando pruebas clínicas".

#### Herramienta para investigar

Los *microarrays* de expresión son una herramienta excelente para la investigación, para conocer qué genes están activados en todas y cada una de las enfermedades. Los de "alta densidad", que contienen representado todo el genoma humano, generan una enorme cantidad de información. El reto está luego en destilar y trasladar toda esta información a la clínica, es decir, en "identificar y validar biomarcadores para utilizar en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades complejas en pacientes concretos", como apunta Miguel Vega, director de Estudios Estratégicos e Innovación de Genoma España. "Lo más importante es que el *microarray* que se pretende utilizar en la clínica contenga ge-

nes informativos", subraya Piris.

Donde sí está mucho más introducida la tecnología de los *microarrays* es en el diagnóstico de enfermedades hereditarias o de mutaciones que se asocian con algunas patologías. Pero para ello se utilizan otro tipo de micromatrices, los denominados *microarrays* de genotipado, que no miden el nivel de expresión de los genes, sino que identifican las posibles variaciones en la secuencia genética respecto a un patrón. Esta técnica se llama hibridación genómica comparada con *microarrays* (CGH, en sus siglas en inglés) y permite descubrir desde variaciones en el número de copias (*copy number variation* o CNV) de ciertas secuencias o genes, ya sean duplicaciones o pérdidas, hasta cambios en un solo nucleótido (una de las letras A, T, C o G) de la secuencia genética, lo que se denominan SNP (*single nucleotide polymorfismo*).

Las pérdidas o duplicaciones pueden oscilar desde una hasta varios millones de pares de bases (las bases A, G, C y T son la parte principal de los nucleótidos), según Lauro Su-

## Hacia la genómica y la medicina personalizadas

Todas las personas tenemos un genoma idéntico en un 99,9% y diferente en el 0,1% restante. Esto significa que de cada 1.000 *letras* de nuestro ADN (las bases A, T, C y G) tenemos una diferente, o lo que es lo mismo, del total de 3.000 millones de letras que tenemos, tres millones son distintas. No está mal. Esos tres millones de letras formarían un libro de 1.500 páginas, que sería algo así como el novelón de nuestra vida única e irrepitable. Ahí están escritas nuestras inclinaciones y predisposiciones genéticas, nuestros pequeños o grandes achaques, pero cifrados en un código de cuatro letras, A, C, G, y T, que se repiten y alternan de forma mareante. Esto es, en fin, nuestro genoma, nuestra singularidad, nuestra diferencia del 1 por 1.000, la base biológica de nuestras grandezas y nuestras miserias.

Se denomina polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, en sus siglas en inglés) a la variación o mutación de una sola base en una secuencia. Algunas de estas mutaciones pueden ser compartidas por muchas personas y, a fuerza de realizar infinidad de secuenciaciones parciales y de *microarrays* de genotipado, se ha descubierto que están asociadas con ciertas enfermedades muy comunes, como la diabetes, la obesidad, la hipertensión arterial o los cánceres de próstata y de mama. De momento hay unos dos centenares de SNP asociados estrechamente con diferentes enfermedades, según Xavier Estivill, del Centro de Regulación Genómica, en Barcelona. Pero "el peso específico de estas asociaciones es muy pequeño, pues la presencia de uno de estos SNP puede aumentar el riesgo de padecer una enfermedad en el 2% o algo así. De modo que mi vida no cambia mucho por tener o no tener algunos de estos SNP", añade.

Además de estas diferencias en el *texto* del genoma, hay diferencias en el número

de páginas o capítulos, y en su orden. Aunque es muchísimo más lo que se ignora que lo que se conoce, toda esta variabilidad genética y los riesgos asociados a ella son la base sobre la que han salido al mercado diferentes pruebas genéticas (23andMe, Navigenics y Decode Genetics son las tres principales), realizadas a distancia a partir de una muestra de saliva y por un precio asequible para muchos. Por ejemplo, el test de 23andMe, que fue distinguido la semana pasada como el invento del año por la revista *Time*, pasa por analizar 600.000 biomarcadores (probablemente SNP) para estimar el riesgo de sufrir 90 problemas de salud, desde la ceguera al Parkinson. En un anuncio que rompe la privacidad para adentrarse en lo publicitario, Anne Wojcicki, cofundadora de la empresa y embarazada, ha reconocido que el hijo que espera tiene un 50% de riesgo de desarrollar Parkinson.

De momento, pocos investigadores toman en serio los dictámenes de riesgo genético de estas empresas. "No me pienso hacer mirar mis genes, porque no creo que con esta información vaya a cambiar nada de lo que voy a hacer con mi vida", dice Estivill. Y Miguel Ángel Piris, del CNIO, añade: "Los resultados de estos tests genéticos precisan equipos médicos multidisciplinares para facilitar su comprensión y establecer recomendaciones terapéuticas o preventivas".

La fiabilidad de estas pruebas genéticas no está en entredicho por la información genética individual obtenida, sino por la interpretación de esos resultados. "Hoy por hoy no es muy fiable lo que se pueda predecir a partir de los resultados de las pruebas", afirma Lauro Sumoy. Es de prever que las cosas cambien en el futuro, pero, como dice Piris, "predecir el riesgo de contraer enfermedades concretas basándose en datos genéticos es aún un proyecto sin fecha".

**Dentro de 5 años la secuenciación del genoma será tan rápida y barata que se convertirá en rutina**

my, de tal manera que "hasta el 10% del genoma de una persona puede ser diferente". Los cambios en el número de copias o en la colocación de estos bloques de nucleótidos se asocian muy a menudo con enfermedades. Y aunque no se conocen ni mucho menos todas las posibles variantes o mutaciones, las que ya se conocen pueden ser identificadas con estos *biochips* de genotipado.

Este tipo de *microarrays* ya está bastante introducido en el diagnóstico de enfermedades y malformaciones congénitas y otras muchas patologías más o menos raras. "Son una auténtica revolución en la práctica y en el mercado del diagnóstico", asegura Ángel Carracedo, catedrático de Medicina Legal y director del Instituto de Medicina Legal de Santiago de Compostela. "Muchos de los diagnósticos genéticos, quizá hasta un 10%, ya se hacen en España mediante *biochips*".

Los *microarrays* están sustituyendo paulatinamente a las pruebas genéticas clásicas que se hacían y todavía se utilizan en medicina forense y en el diagnóstico prenatal, como es

el cariotipo (ordenamiento de los cromosomas de una célula para observarlos al microscopio). "La citogenética molecular con *microarrays* será algo rutinario y generalizado en los próximos años. Si ahora no está más introducida en España es porque faltan especialistas en genética", afirma Xavier Estivill, director del Programa Genes y Enfermedades del CRG, en Barcelona.

Lauro Sumoy corrobora que "lo más prometedor a nivel diagnóstico es la hibridación genómica comparada con *microarrays*". Con estos *biochips* se pueden detectar desde retrasos mentales hasta enfermedades metabólicas o cardiovasculares. Un buen ejemplo es el llamado *Lipo-chip*, un *microarray* desarrollado por la empresa española Progenika en colaboración con la farmacéutica Lacer, que contiene todas las mutaciones detectadas en la población española relacionadas con la hipercolesterolemia familiar y con el que es posible diagnosticar esta enfermedad. En varias comunidades está ya incluido en la cartera de servicios de la sanidad pública.

## Secuencias completas para todos los pacientes

La secuenciación del genoma humano fue un esfuerzo colectivo que ocupó a centenares de personas durante más de una década, hasta que el 24 de abril de 2003 se publicó por fin la *frase* completa de 3.000 millones de letras o bases. En 2007 los investigadores James Watson y Craig Venter publicaron también sus genomas personales tras meses de trabajo de secuenciación y con un coste próximo al millón de dólares (770.000 euros). Pero ahora ya es posible secuenciar un genoma individual en apenas 15 días y por menos de 77.000 euros. Y los expertos predicen que en menos de cinco años la secuenciación del genoma será

tan rápida y asequible que estará integrada en la rutina clínica diaria, del mismo modo que ya lo está por ejemplo escáner.

Este cambio revolucionario será posible gracias a la entrada en escena de una nueva tecnología: los ultrasecuenciadores, que permiten secuenciar literalmente millones de moléculas en paralelo. "Muchas de las aplicaciones que tienen ahora los *microarrays* se realizarán pronto con ultrasecuenciación", prevé Xavier Estivill, coordinador del Programa Genes y Enfermedades del CRG, en Barcelona. La llamada medicina personalizada podría por fin hacerse realidad con esta nueva herramienta.