

## MICROARREGLOS EN ONCOLOGÍA

Mauricio Salcedo, Guelaguetza Vázquez, Alfredo Hidalgo, Carlos Pérez,  
Patricia Piña, Karla Santillán, Brenda Alatorre, Hugo Arreola,  
Ricardo López, Carlos Montoya, Bernardo Navarro, Tania Cerón

### RESUMEN

Con el objetivo de examinar y descifrar el transcriptoma completo de las células normales y malignas de manera sistemática y con la disponibilidad de la secuencia del genoma humano, ahora es posible gracias al uso de tecnología de alto rendimiento.

En la detección y tamiz de mutaciones de polimorfismo o mutaciones, análisis de alta resolución de aberraciones cromosómicas y los perfiles de expresión génica, el uso de los microarrays o microarreglos, está empezando a proveer una visión más comprensible de las alteraciones genéticas presentes en las células cancerosas. En estos momentos podemos interrogar e interpretar algunos de estos datos prometiendo modificar la manera de como el cáncer debe ser detectado y tratado en el futuro, gracias a la combinación de la bioinformática y las herramientas de análisis de datos. En la presente revisión se muestra una visión muy general del estado de arte referentes a las diversas plataformas tecnológicas de los microarrays aplicados a la Investigación de la Genómica del cáncer.

**Palabras Clave:** Genoma, microarreglo, genómica, diagnóstico, cáncer.

### Microarrays in oncology

### ABSTRACT

With the availability of the human genome sequence, the goal of examining and deciphering the entire transcriptome of normal and malignant cells in a systematic way is now possible by using high throughput technology.

The use of microarrays is starting to provide a comprehensive view of genetic alterations in cancer cells by genome-wide polymorphisms screens, high-resolution analysis of chromosomal aberrations and expression profiling. In combination with the development of the bioinformatic and data analysis tools necessary to interrogate and interpret these data. This approach promises to revolutionize how we think about cancer and how we are likely to detect and treat cancer in the future.

The present review shows an overview of the state of the art of different microarrays technologies applied to Cancer Genomics Research.

**Key Words:** Genome, microarray, genomics, diagnosis, cancer.

ARTÍCULO RECIBIDO EN MAYO DEL 2003 Y ACEPTADO EN JUNIO DEL 2003.

El cáncer es uno de los más importantes problemas de salud pública a nivel mundial<sup>1</sup>. En los Estados Unidos se estima que para este año se diagnosticarán cerca de un millón y medio de nuevos casos generando un grave problema de salud<sup>2,3</sup>. En estos momentos, con la gran cantidad de metodologías desarrolladas para la investigación, nos encontramos en un área con enormes oportunidades para descubrir y descifrar aspectos relacionados con las bases moleculares de las neoplasias. El concepto

“descubriendo la ciencia” puede ser ilustrado por el proyecto del genoma humano, es decir, la carrera científica denominada Genómica. Aunque conocemos casi en su totalidad el genoma de la célula humana, esta carrera prosigue y nos conduce a la actual era post-Genómica<sup>4,5</sup>. Esto involucra la identificación y estudio integrador de los componentes de un sistema sin anticipar la formulación de hipótesis de cómo funcionan estos componentes. Así, un gran flujo de secuencias o “tags” humanas expresadas (ESTs o expression sequence tags) proveen un punto de partida para dilucidar la función de los miles de genes contenidos en el genoma. Para entender de forma detallada el genoma humano se requerirá de la implementación de métodos

---

Laboratorio de Oncología Genómica, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, CMN SXII-IMSS. E-mail: maosal89@yahoo.com

## VERTIENTES

sofisticados de alto rendimiento (high-throughput), así como, para el análisis de su expresión permitiendo el descubrimiento de nuevos genes.

El concepto de “Genómica” está conformado por la genómica estructural, funcional, individual y comparativa. El campo de la genómica funcional incluye la determinación del número de genes, transcritos o proteínas (DNA, RNA mensajero y proteínas) presentes y expresados en una célula-tejido específico, en un momento fisiológico determinado: Transcriptoma y Proteoma, respectivamente.

A la fecha existen dos tipos de sistemas de análisis masivos de expresión: sistemas cerrados y abiertos. El sistema cerrado consiste en determinar la expresión de los genes o secuencias impresas en el array, mientras que el sistema abierto consiste en determinar la expresión de todos los genes que se presentan en una célula, ideal para el transcriptoma. En otras palabras, el sistema cerrado consiste en realizar el estudio por medio de microarreglos (también se les conoce como microarrays, biochips, microhileras, micromatrices), los cuales contienen genes o secuencias conocidas, como los EST o bien genes anotados; mientras que el sistema abierto queda ejemplificado por el uso de la tecnología de análisis de expresión génica en serie o SAGE, tecnología que analiza la totalidad de los genes expresados, permitiendo identificar nuevas secuencias o genes, así como, los niveles de expresión que presentan en un momento determinado de manera cuantitativa<sup>6</sup>.

Un microarreglo o microarray de ácidos nucleicos es una plataforma sólida que puede ser de nylon, vidrio o plástico donde se encuentran inmovilizados generalmente en un área de 1 cm<sup>2</sup>, un grupo limitado y finito de genes o fragmentos de genes (en promedio 50 bases de longitud) que pueden ir de cientos hasta miles, es decir, desde 100 elementos/cm<sup>2</sup> hasta 25,000 elementos/cm<sup>2</sup> generando así los microarrays de baja o alta densidad<sup>7-9</sup>. Estas secuencias deben estar previamente caracterizadas y presentan el acomodo espacial de una matriz matemática. Sobre estas plataformas con las secuencias de DNA, cDNA u oligonucleótidos, se hibrida el DNA o cDNA provenientes de dos estados biológicos diferentes por ejemplo sano vs patológico, previamente marcados con diferentes fluorocromos (fluoresceína o verde, rodamina o rojo; otros fluorocromos usados son los Cy3 Cy5), de esta manera cuando el “arreglo” es leído, se cuantificará la intensidad de la fluorescencia de cada fluorocromo en un escáner especial y se apreciarán diferentes colores: verde cuando hay una sobre-expresión, rojo para supresión y amarillo cuando no hay cambios en la expresión entre la muestra normal y la muestra problema. En este contexto, estas plataformas tecnológicas han sido utilizadas para clasificar diversas patologías basándose en sus patrones de expresión, más que por características morfológicas como en el caso del linfoma de células B<sup>10</sup>. Asimismo, estos microarrays están permitiendo monitorear simultáneamente los patrones de expresión de miles de genes durante diversos procesos celulares, como por ejemplo durante la diferenciación. Para ello, los nuevos equipos analíticos

basados en la ultraminiaturización y paralelismo, convergen en la aplicación de nuevos sistemas de fabricación, los cuales provienen de las tecnologías de la informática y la electrónica y se aplican ahora en el diseño de biochips (chips de material biológico de alta densidad de integración), para poder realizar distintos tipos de estudios repetitivos con muestras biológicas simples y por procedimientos analíticos completos sobre muestras individuales (lab-on-a-chip)<sup>11</sup>. El potencial de estos sistemas, permite lograr en un tiempo corto gran cantidad de información, que debe ser analizada con poderosas técnicas estadísticas y bioinformáticas para extraer conocimiento de utilidad. Estas técnicas ofrecen la capacidad de comparar y relacionar la información genética con una finalidad deductiva, ofreciendo respuestas que van implícitas y que no parecen obvias a la vista de los resultados de los experimentos. Así, todos los sistemas que permiten la integración y análisis de datos provenientes del uso de biochips o microarrays, están justificadas por la necesidad de manejar la información masiva de alto rendimiento con enfoques integrados (genómica funcional, proteómica, expresión génica, genómica comparada, etc.)<sup>9-11</sup>.

Esta poderosa tecnología tiene su inicio hace poco más de una década, culminando en la plataforma del conocido GeneChip por la compañía de Affymax (hoy Affymetrix)<sup>12,13</sup>. El nombre general que recibe esta tecnología es el de biochip. Sin embargo, dependiendo de la macromolécula usada para construir el arreglo, encontramos el DNA chip, chip genómico, RNA chip, los cDNA microarrays, microarrays basados en oligonucleótidos, o los chips de proteínas, entre otros (Figura 1). Actualmente, se cuenta con una gran gama de biochips disponibles comercialmente para casos específicos, por ejemplo los Oncochip, Genechip, linfocip, nanochip, cardiochips, hepatochips, estafilochips, etc.<sup>14,15</sup> Sus aplicaciones se han ido incrementando día con día, empleándose entre otras cosas para la:

- i) monitorización de expresión génica,
- ii) detección de mutaciones y polimorfismos,
- iii) secuenciación,
- iv) diagnóstico clínico-detección de microorganismos,
- v) tamizaje en toxicología,
- vi) seguimiento de terapias<sup>11</sup>.

Uno de los campos en los cuales el uso de los microarrays está siendo esencial y de gran impacto es el área de la oncología.

### USO DE LOS MICROARREGLOS EN UNA NUEVA CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES

La transformación neoplásica es el resultado de la acumulación de alteraciones en genes esenciales, relacionados con la proliferación y diferenciación celulares (entre otros la combinación de oncogenes, genes supresores de tumor, falla en los genes de reparación, mecanismos de metilación, apoptosis, entre otros).

Por otro lado, la clasificación de tumores humanos se encuentra variando constantemente, lo que está permitiendo tomar

diferentes opciones de tratamiento. Así mismo, en forma reciente se han publicado gran cantidad de artículos en los cuales se aplican los microarrays en la línea de la onco-hematología<sup>16</sup>.

En este contexto, se han aplicado los microarrays para clasificar en cuanto a su expresión génica a las leucemias linfoides y mieloide (leucemias agudas) a partir de muestras de médula ósea. Este estudio demostró con gran certeza que el diagnóstico a nivel molecular coincide con el diagnóstico clínico. Además, cada tipo de leucemia mostró un patrón de expresión génica diferencial. Este estudio sienta las bases para el desarrollo del diagnóstico precoz de este tipo de enfermedades. Con respecto a otra afección onco-hematológica, los linfomas, se ha demostrado en un reporte multi-institucional que es posible realizar nuevas taxonomías tumorales dependiendo de los patrones de expresión génica. Así, fue posible determinar distintos histotipos de linfomas difusos de células grandes tipo B. Este estudio surge de la observación clínica de que, aún cuando histológicamente los tumores son iguales y aunque todos los pacientes reciben el mismo tratamiento, un grupo de ellos fallece (60%) y el otro sobrevive a la enfermedad. Los resultados del estudio mostraron que estas diferencias ante la respuesta al tratamiento tienen su base en los patrones de expresión génica en cada grupo de pacientes. Una expresión génica característica de centros germinales de células B se asocia con un pronóstico más favorable, mientras que el patrón de expresión de células maduras activadas presentes en circulación, se asocia con un mal pronóstico. Así, este trabajo sienta las bases para nuevos criterios pronósticos más certeros que los tradicionales, además de proponer nuevas clasificaciones moleculares del tumor y abre la posibilidad de identificar subtipos de cáncer no detectables con métodos tradicionales<sup>10,17-21</sup>.

Otros grupos han usado el análisis de los patrones de expresión génica para clasificar a nivel molecular tumores de ovario<sup>22,23</sup> mama<sup>24-26</sup>, melanomas cutáneos<sup>27</sup>, próstata<sup>28</sup> y adenocarcinomas de pulmón<sup>29-30</sup>. Estos estudios demuestran la capacidad de combinar el análisis molecular de los perfiles de expresión génica a gran escala, con los métodos clásicos de morfología y clínica para la etapificación de las neoplasias, todo esto para obtener mejores diagnósticos clínicos y para poder predecir la supervivencia de los pacientes<sup>31</sup>.

### MARCADORES MOLECULARES ESPECÍFICOS DE TUMOR

Como se mencionó anteriormente, el uso de los microarrays también ha tenido impacto en el estudio de tumores sólidos. Esto está permitiendo obtener los “retratos moleculares de las neoplasias”. Un gran esfuerzo se comienza a realizar de manera cotidiana para ayudar a descifrar la información obtenida de muestras tumorales. Así, un gran número de grupos de investigación a nivel internacional, está enfocando sus estudios para obtener grupos de genes que marquen una expresión diferencial entre tejido sano y enfermo, incluyendo líneas celulares provenientes de neoplasias. Estos estudios incluyen cáncer de cabeza y cuello<sup>32,33</sup>, cáncer endometrial<sup>34</sup>, colo-rectal<sup>35,36</sup>, etc. Sin embargo, a la fecha se cuenta con muy pocos datos para poder dilucidar los mecanismos moleculares de esas neoplasias. Esta situación puede deberse al alto costo que tiene esta tecnología, pero a medida que diversos grupos comiencen a trabajar con estas plataformas, los costos tendrán que disminuir debido a una mayor demanda.

Actualmente, nuestro grupo se encuentra analizando el retrato molecular del cáncer cérvico-uterino (CaCU) dentro de diferentes contextos: Genómica estructural, funcional e individual, así

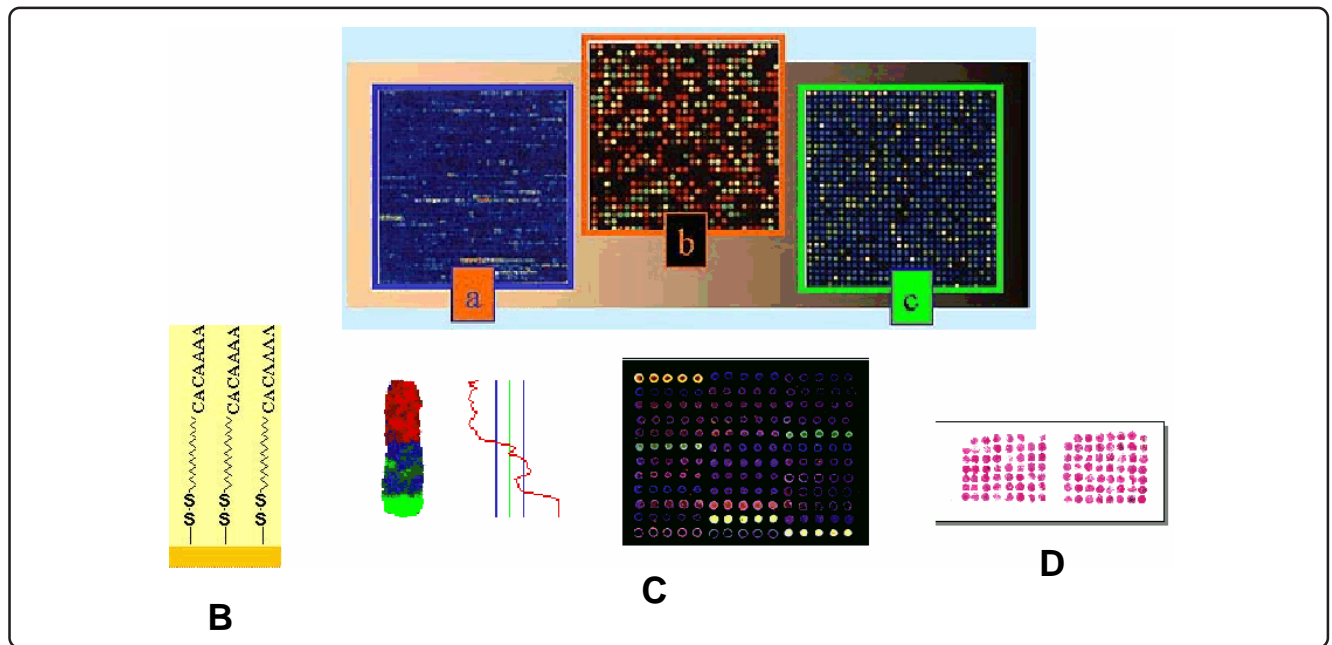


Figura 1. Diversidad de plataformas de microarreglos. Arrays de A, expresión, B, de DNA, C, hibridación genómica comparativa y D, tejidos.

## VERTIENTES

como, la Genómica funcional del virus de papiloma humano de alto riesgo (HPV), tratando de descifrar el “queratinosoma” del cérvix uterino humano, utilizando diversas metodologías de análisis genético global y alto rendimiento. Como se sabe, el factor etiológico más importante en el CaCu es el HPV de alto riesgo tipos 16 y 18, siendo este último el más agresivo clínicamente. Aplicando los microarreglos de cDNA de la plataforma ULTRA Array, nuestro grupo ha logrado identificar los genes alterados transcripcionalmente en esta neoplasia, asimismo, se determinó un patrón de expresión diferencial entre los tipos 16 y 18. Estos resultados son soportados por estudios de hibridación genómica comparativa sobre metafases (HGCM), con lo cual se ha logrado detectar desbalances cromosómicos específicos que coinciden con regiones que se activan o reprimen transcripcionalmente. De esta manera estamos definiendo las firmas genéticas que generan cada tipo de HPV de alto riesgo<sup>37,38</sup>.

Por otro lado, los biochips han confirmado que la expresión génica en líneas celulares derivadas de cánceres humanos, reflejan en gran medida a la expresión génica de los tejidos de donde provienen, también mostraron que las metástasis surgen a partir de células que modifican su patrón de expresión de manera sutil, con relación a su tumor primario. En su conjunto, estos hallazgos han permitido obtener una visión más clara acerca de las alteraciones genéticas que son necesarias para que un tumor se forme y desarrolle, permitiendo la caracterización genética global de una determinada neoplasia y señalando genes o mecanismos celulares susceptibles de ser utilizados como marcadores pronósticos o diagnósticos, o como blancos adecuados para nuevas terapias.

Un experimento común de microarreglos valora la expresión de entre 1,500 a 10,000 genes en una sola hibridación, generando gran cantidad de resultados que deben ser analizados de manera lógica para poder extraer la mayor información posible de los mismos. Como se ha mencionado anteriormente, estos resultados deben ser interpretados mediante el uso de herramientas bioinformáticas<sup>39-42</sup>. Para ilustrar el valor de tales análisis de datos, estas herramientas (por ejemplo mapas autorganizables o SOM), se han aplicado en el estudio de diferenciación hematopoyética utilizando líneas celulares. En ese estudio fue indispensable organizar los genes basándose en su relevancia biológica en grupos o “clusters” usando los paquetes computacionales GENECLUSTER, J-Express y Tree-View disponible en la red. De esta manera se sugirieron nuevas hipótesis acerca de la diferenciación hematopoyética, por ejemplo, enfocándose a ciertos genes y rutas metabólicas involucradas en diferenciación y que puedan ser usadas en las terapias de la leucemia promielocítica aguda. El uso adecuado de las herramientas bioinformáticas, ha permitido caracterizar un nuevo tipo de leucemia basándose en su patrón de expresión génica. En este estudio, se analizó el patrón de expresión de leucemias linfoblásticas agudas que presentaban una translocación que involucra al gen *MLL*, demostrándose que dicho grupo de leucemias constituyen una entidad patológica diferente a las ya descritas<sup>10</sup>. El campo de la bioinformática es uno de los más

dinámicos de las áreas biomédicas, constantemente se desarrollan nuevos algoritmos matemáticos que permiten un análisis más profundo de los datos generados por los microarrays<sup>39-43</sup>. Un ejemplo de esto lo constituye el trabajo en el cual se definen grupos de genes que permiten predecir el curso clínico de los linfomas difusos de células grandes B. A diferencia del artículo previamente mencionado sobre este tipo de tumor, en éste se utilizó un algoritmo derivado de modelos de inteligencia artificial, denominado “supervised vector machine” o SVM. Este algoritmo toma en cuenta además de los patrones de expresión génica, otras variables tales como, el índice internacional de pronóstico y el tipo de tratamiento. Este tipo de método de predicción con aprendizaje supervisado, permitió identificar patrones de expresión relacionados con la cura de la enfermedad y patrones de expresión presentes en los casos fatales o refractarios a tratamiento<sup>44-47</sup>. Hablar de los microarreglos o microarrays no es sinónimo de estudios de expresión de RNA, es hablar de una amplia tecnología que puede ser aplicable a diferentes situaciones biológicas, es decir, a la presencia o ausencia de mutaciones o polimorfismos, a expresión proteica, etc.

### **MICROCHIPS DE POLIMORFISMOS ÚNICOS DE DNA O SNPs: PREDISPOSICIÓN A LA ENFERMEDAD**

Recientes evidencias epidemiológicas sugieren que la predisposición genética puede jugar un relevante papel en el desarrollo del cáncer. Por ejemplo, se ha demostrado que en más del 42% del cáncer de próstata tiene influencia genética<sup>48</sup>. En este sentido, más allá de los genes que pudieran estar relacionados con esta neoplasia, la atención se está enfocando a la identificación de polimorfismos de nucleótidos simples o SNPs asociados a la enfermedad y que en este caso, representan el tipo más común de alteración molecular o variación en la secuencia en el DNA del genoma humano. Se sabe que aproximadamente uno de cada mil pares de bases del genoma es polimórfico, y se estima que para finales de este año se tengan descritos más de 2 millones de SNPs, los cuales estarán disponibles en bases de datos públicas compartiendo las bases de datos de SNP y HapMap<sup>49-50</sup>. Parte importante de los SNPs es que la mayoría de ellos son del tipo silencioso y que no implican cambios funcionales con consecuencias anormales, no tanto aquellos que si caen en regiones codificadoras los cuales cambian la composición de los aminoácidos y las propiedades funcionales de las proteínas. Mayor atención tendrán aquellos que se encuentren en otras regiones como promotores, enhancers, silenciadores, etc.

La identificación de SNPs asociados a fenotipos específicos requerirá de tecnología de gran escala para poder monitorizar una gran cantidad de muestras de DNA y realizar las asociaciones multiparamétricas clínico demográficas mediante algoritmos bien definidos, es decir el parte aguas de la Epidemiología Genómica<sup>51-53</sup>.

A la fecha ya contamos en el mercado con varios microarrays y tecnología de biochips asociados a SNPs, tal como la

tecnología de primera generación como el Affymetrix SNP array el cual contiene 1,500 SNPs o algunos otros como Genometrix, Protogene, y el Motorola Biochip Systems. Esto abre la oportunidad de realizar proyectos de gran escala en microarrays en formatos de media densidad, robotizados, multiplexados, rápidos (en horas) y a bajo costo en modelos establecidos como HIV, p53, citocromo P450 y mutaciones en mitocondria humana<sup>52</sup>.

### MICROARREGLOS PARA DESBALANCES CROMOSÓMICOS "CGH ARRAY"

Como se ha mencionado, los microarreglos pueden ser de diferentes tipos según la fuente de su impresión DNA o cDNA.

En el caso de los microarreglos de DNA, éstos se han utilizado más recientemente en el estudio de la ganancia y pérdida de regiones cromosómicas en las neoplasias. Esta plataforma deriva de la conocida HGCM. Con las recientes técnicas de alto rendimiento en menos de una década se cuenta ya con una nueva versión de HGC "corregida y aumentada", la HGC en microarreglo o CGH Array. Ahora no sólo contamos con una tecnología que nos permite visualizar todas las alteraciones cromosómicas en un solo ensayo (en 23 estructuras cromosómicas) sino que ahora en el nuevo formato de microchips tenemos en cada spot o clona impresa, fragmentos de DNA de 1,500 pares de bases hasta fragmentos de 2 Mega pares de bases (calcule número de spots en el chip = longitud DNA humano/1,500 o 2Mpb; UCSF, Genomic Array)<sup>41-45,54,55</sup>.

En el mercado se cuenta actualmente con algunos microarreglos de DNA humano con aprox. 800 "spots" (Genesensorchips, VYSIS). Con la plataforma de CGH Array, de GenoSensor-VYSIS, hemos confirmado nuestros resultados de HGCM y además contamos con más de 20 regiones cromosómicas (amplicones) que potencialmente pueden ser marcadores de invasividad y metástasis (enviado a su publicación).

### MICROCHIPS DE ALTO RENDIMIENTO Y SU APLICACIÓN EN PROTEÓMICA "PROTEIN CHIPS"

Las proteínas son las principales moléculas efectoras en las células. Los niveles del RNA mensajero no proveen la información sobre la tasa de traducción de los genes a las proteínas o sobre el grado de modificación de mecanismos post-traduccionales, así como, en la complejidad de las numerosas interacciones que las proteínas tiene unas con otras. En este contexto, el entendimiento de los niveles, actividades funcionales y las redes neurales de interacción vienen a ser los retos primarios de la investigación en la era post-genómica.

La clásica técnica de visualización de la proteómica es la electroforesis de doble dimensión, seguida por la purificación del péptido expresado diferencialmente y su cuantificación. Sin embargo, métodos alternos se están desarrollando y así cientos o miles de anticuerpos son microarreglados sobre laminillas y de esta manera determinar en muestras biológicas la presencia de determinados epítomos marcadores. Como en los casos anteriores,

en el mercado también encontramos "Proteinchips" pero en baja oferta y demanda. En otras palabras, la tecnología de los chips de proteínas está aún en fase temprana de desarrollo comparada con la de DNA o RNA, sin embargo, el desarrollo técnico en este campo de investigación será más rápido<sup>52-56</sup>.

### INTEGRACIÓN DE LA GENÓMICA FUNCIONAL CON HALLAZGOS DE MORFOLOGÍA DE TEJIDOS "TISSUE CHIP"

Es obvio que la información obtenida por la tecnología de los biochips debe ser validada para que pueda tener una interpretación mayor. Así, se ha desarrollado la tecnología de los microarreglos de tejidos (T $\mu$ A), la cual ha permitido detectar *in situ* alteraciones en un gran grupo de especímenes humanos mediante las técnicas de inmunohistoquímica o hibridación *in situ* fluorescente. El T $\mu$ A provee así, una plataforma tecnológica poderosa para la investigación de la genómica traduccional y funcional<sup>52,56-58</sup>. Brevemente, los T $\mu$ A son portaobjetos clásicos que contienen arreglados hasta más de 1,000 tejidos dispuestos en un arreglo especial y que tiene relaciones sobre información clínica, patológica y demográfica. Estos permiten trabajar desde cientos hasta miles de muestras a un tiempo ("una corrida") de forma masiva y en paralelo. En otras palabras, esta plataforma es ideal para estudiar la significancia clínica de los cientos de genes, transcritos o proteínas obtenidas mediante estudios en microarrays como potenciales marcadores. Dado el alto costo del equipo microarreglador automatizado que se encuentra en el mercado y buscando alternativas a esta tecnología, nuestro grupo ha diseñado recientemente un formato de microarreglos de tejido de baja densidad, manual, económico y capaz de usarse en cualquier laboratorio de investigación biomédica<sup>59</sup>. En este formato es posible aplicar técnicas clásicas de histología, hibridación *in situ* e inmunohistoquímica.

Otras áreas de impacto potenciales de estas plataformas tecnológicas además de la oncología serán: el desarrollo de la medicina preventiva desde una perspectiva genómica (determinar la susceptibilidad hacia determinadas patologías) antes de que aparezcan los primeros síntomas; medicamentos personalizados (farmacogenómica) y el diagnóstico en el *point-of-care* (permitiendo la obtención de datos genómicos individuales en el punto de atención sanitaria).

Finalmente, el conjunto de este tipo de tecnologías, los biochips y la bioinformática, contribuirán en un tiempo razonable a lograr un entendimiento más profundo acerca del transcriptoma completo de la célula normal y transformada y permitirán identificar de manera más rápida y eficiente, usando métodos genéticos de gran escala, el descubrimiento de nuevos genes.

Cabe aclarar que toda esta tecnología es extraordinariamente cara y que lo ideal es la conformación de grupos multidisciplinarios con propuestas afines. A la fecha en nuestra comunidad científica se cuenta ya con diferentes grupos que tienen parte de estas plataformas tecnológicas, ya sea en la generación de microarrays o en la aplicación de éstos, baste decir los grupos de la ENCB-IPN, CINVESTAV, CISEL, UNAM, IMSS entre otros. Asimismo,



## VERTIENTES

proveerá las bases para entender la génesis, progresión y respuesta a las terapias. Sin embargo, la tecnología de microarreglos no lo es todo, es sólo el comienzo y para poder proseguir en estas nuevas líneas de investigación, es necesario la formación de grupos enfocados a la bioinformática, matemática teórica, biocomputación, redes génicas y neurales y al análisis de datos, con los cuales se logre extraer de toda esta minería de datos (Data mining), aquellos con una validez estadística (marcadores potenciales). La combinación de todas estas plataformas creará las bases de decisión para próximos tratamientos individualizados para los pacientes oncológicos<sup>48,51,59</sup>.

## REFERENCIAS

1. Greenlee, T., Murray, T., Bolden, S. y cols. Cancer Statistics. CA Cancer J. Clin. 2000; 50: 7-33.
2. Jemal, A., Murray, T., Samuels, A., y cols. Cancer Statistics. CA Cancer J. Clin. 2003; 53: 5-26.
3. Simmonds, A. Cancer Statistics. Further decrease in mortality rate, increase in persons living with cancer. CA Cancer J. Clin. 2003; 53: 4.
4. Lander, S., Linton, B., Birren, C. y cols. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001; 409: 860-921.
5. Venter, C., Adams M., Myers, E. y cols. The sequence of the human genome. Science 2001; 291: 1304-1351.
6. Velculescu, V., Zhang, L., Vogelstein, B. y cols. Serial analysis of gene expression. Science 1995; 270:484-87.
7. Okamoto T, Suzuki, T., Yamamoto, N. Microarray fabrication with covalent attachment of DNA using bubble jet technology. Nat Biotechnol. 2000; 18: 438-441.
8. Rose, D. Spotted arrays; technology overview. p13-14 In JA Warrington CR Todd & Wong D (Eds), Microarrays and Cancer Research. Eaton Publishing, Westborough, MA. 2002.
9. Schena, M., (Ed). Microarray biochip technology. Eaton Publishing, Sunnyvale CA. USA. 2000.
10. Golub, T., Slonim, D., Tamayo, P., Molecular classification of cancer: Class discovery and class prediction by gene expression monitoring. Science 1999; 286: 531-37.
11. [www.seis.es/i\\_s/i\\_s19/i\\_s19l.htm](http://www.seis.es/i_s/i_s19/i_s19l.htm)
12. Lipshultz, R., Fodor, S., Gingeras, T., y cols. High density synthetic oligonucleotide arrays. Nat. Genet. 1999; 21: 20-24.
13. Fodor, P., Read, J., Pirrung, I. y cols. Light-direct, spatially y addressable parallel chemical synthesis. Science 1991; 251: 767-773.
14. [www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html)
15. Alexandre I, Hamels S, Dufour S. Colorimetric silver detection of DNA microarrays. Anal Biochem 2001; 295: 1-8.
16. Mayani H, Salcedo M. Microchips de ADN: una nueva herramienta para el diagnóstico molecular del cáncer. Rev Inv Clin 2000; 52: 600-2.
17. Khan J., Bittner M, Chen Y y cols. DNA microarray technology: The anticipated impact on the study of human disease. Biochem Biophys Acta. 1423: m17-28.
18. Alizadeh A, Eisen M, Davier R y cols. Distinct types of diffuse large B cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature 2000; 403: 503-511.
19. Ycch E, Ross M Shurleff W. classification, subtype, discovery and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. Cancer Cell 2002; 1:133-143.
20. Armstrong S, Stauton J., Silverman L., Pieters R. y cols. MML translocations specify a distinct gene expression profile that distinguishes a unique leukemia. Nat. Genet. 2002; 30: 41-47.
21. Shipp M, Ross K, Tamayo P y cols. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction gene expression profiling and supervised machine learning. Nat. Medicine 2002; 8:68-74.
22. Ono, K., Tanaka, T., Tsunoda, T. y cols. Identification by cDNA microarrays of genes involved in ovarian carcinogenesis. Cancer Res. 2000; 60: 5007-5011.
23. Schwartz, D., Kardia, K., Shedden, R. y cols. Gene expression in ovarian cancer reflects both morphology and biological behavior, distinguishing clear cell from other poor-prognosis ovarian carcinomas. Cancer Res. 2002; 62: 4722-4729.
24. Perou, C., Jeffrey, M., Van de Rijn, M. y cols. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999; 96: 9212-9217.
25. Perou, C., Sorlie, T., Eisen, M., Van de Rijn, M. y cols. Molecular portraits of human breast tumors. Nature 2000; 406: 747-752.
26. Sorlie, T., Perou, C., Tibshirani, T. y cols. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2001; 98: 10869-10874.
27. Bittner, M., Meltzer, P., Chen, Y. y cols. Molecular classification of cutaneous malignant melanoma by gene expression profiling. Nature 2000; 406: 536-540.
28. Dhanasekaran, S., Barrette, T., Ghosh, D. y col. Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. Nature 2001; 412: 822-826.
29. Bhattacharje, A., Richards, W., Stauton, J. y cols. Classification of human lung carcinoma by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2001; 98: 13790-13795.
30. Garber, M., Troyanskaya, O., Schluens, K. y cols. Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2001; 98: 13784-13789.
31. Ochs M, Gowin A. Microarrays in Cancer: Research & Applications. Biotechniques 2003; 34:S4-15.
32. Alevizos I, Mahadevappa M, Zhang X, y cols. Oral cancer in vivo gene expression profiling assisted by laser capture microdissection and microarray analysis. Oncogene 2001; 20: 6196-6204.
33. Todd R, Gutkind E, Shillitoe E, Solid tumors: microarray analysis of oral cancers. P139-153. In JA Warrington CR Todd & Wong D (Eds), Microarrays and Cancer Research. Eaton Publishing, Westborough, MA. 2002.
34. Du F, Mahadevappa M, Warrington J, y cols. Gene expression changes in endometrial cancer. P113-125. In JA Warrington CR Todd & Wong D (Eds), Microarrays and Cancer Research. Eaton Publishing, Westborough, MA. 2002.
35. Hegde P, Qi R, Gaspard K, y cols. Identification of tumor markers in model of human colorectal cancer using a 19,200 element complementary DNA microarray. Cancer Res. 2001; 61: 7792-7797.
36. Notterman D, Shawer C y Levine A. Tumor biology and microarray

- analysis of solid tumors: Colorectal cancer as a model system. P81-111 In JA Warrington CR Todd & Wong D (Eds), *Microarrays and Cancer Research*. Eaton Publishing, Westborough, MA. 2002.
37. Hidalgo A, Schewe C, Petersen S, y cols. Human papilloma virus status and chromosomal imbalances in primary cervical carcinomas and tumor cell lines. *Eur J Cancer*, 2000; 36:542-548.
38. Hidalgo A, Monroy A, Arana RM y cols. Chromosomal imbalances in four new uterine cervix carcinoma derived cell lines. *BMC Cancer* 2003; 3:8-13.
39. Eisen, M., Spellman, P., Brown, P. y cols. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95: 14863-14868.
40. Tamayo, R., Slonin, D., Mesirov, J. y cols. Interpreting patterns of gene expression with self-organizing maps: methods and application to hematopoietic differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999; 96: 2907-2912.
41. Kohonen T. *Self Organizing Maps*. Springer New York 1997.
42. Getz, G, Levine, E y Domay, E. Coupled two-way clustering analysis of gene microarray data. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000; 97: 12079-12084.
43. Lukashin, A y Fuchs, R. Analysis of temporal gene expression profiles: clustering by simulated annealing and determining the optimal number of clusters, *Bioinformatics* 2001; 17: 405-414.
44. Sharpf R, Garrett E, Hu J. Statistical modeling and visualization of molecular profiles in cancer. *Biotechniques* 2003; 34: S22-29.
45. Ringner M, Peterson C. Microarray-based Cancer Diagnosis with artificial neural networks. *Idem* S30-35.
46. Brown, MP, Grundy, W, Lin, D y cols. Knowledge-based analysis of microarray gene expression data by using support vector machines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000; 97: 262-267.
47. Jajuga, K., Sokolowski, A. y Bock, H. *Classification, Clustering, and Data Analysis*. Springer-Verlag, New York. 2002.
48. Lichtenstein P, Holm N, Verkasalo P, y cols. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *New Engl J Med*. 2000; 343: 78-85.
49. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>
50. <http://snp.cshl.org/>
51. Hidalgo A, Salcedo M. Estrategias de análisis global. Hacia el manejo genético de las neoplasias. *Rev Inv Clin* 2001; 53:430-443.
52. Kallioniemi O. Biochips technologies in Cancer Research. *Ann Med* 2001; 33:142-147.
53. Shi M. Enabling large-scale pharmacogenetic studies by high-throughput mutation detection and genotyping technologies. *Clin Chem* 2001; 47:164-172.
54. Albertson D. Profiling breast cancer by array CGH. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 78:289-298.
55. Pinkel D, Seagraves R, Sudar D y cols. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarray. *Nat Genet* 1998; 20: 207-211.
56. Borreback C. Antibodies in diagnostics from immunoassays to protein chips. *Immunol Today* 2001; 21:378-382.
57. Kallioniemi O, Wagner U, Kononen J y cols. Tissue microarray (tissue chip) technology for high-throughput molecular profiling. *Hum Mol Genet* (In press).
58. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A y cols. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998; 4:844-847.
59. Hidalgo A, Piña P, Guerrero G, y cols. A simple method for the construction of small format tissue array. *J Clin Pathol* 2003; 56:144-146.