

15 DE OCTUBRE DE 2008

Análisis genético predice la posibilidad de recurrencia del cáncer de hígado

Investigadores pueden descubrir los secretos genéticos guardados en cientos de miles de biopsias de cánceres que han estado guardadas por mucho tiempo y que previamente se pensaba serían inútiles para la investigación genética moderna. Con la ayuda de una nueva técnica desarrollada por investigadores del Instituto Médico Howard Hughes, los científicos ahora pueden reconstruir miles de genes que fueron cortados en pequeños pedazos cuando las muestras de tejidos se trataron con un fijador químico y se almacenaron en cera -protocolo comúnmente utilizado para preservar indefinidamente las muestras de tejidos-.

Los científicos probaron su nueva técnica en muestras de tejidos hepáticos de 307 pacientes enlistados en estudios clínicos en cuatro países distintos. Los científicos utilizaron una sofisticada tecnología de microarreglos para examinar el ARN de muestras de tejidos hepáticos almacenadas. Sus estudios identificaron un perfil genético que indicaba si el cáncer de hígado recurriría.

"El hecho de que la información que nos permite hacer predicciones no provenga del tumor sino del tejido circundante podría ofrecer pistas importantes sobre el mecanismo del cáncer hepático."

— **Todd R. Golub**

Dado que la prueba fue hecha usando muestras de tejidos de pacientes cuyos resultados clínicos se conocían, los investigadores pudieron asociar las características de expresión génica con la probabilidad de recurrencia tumoral.

Los investigadores esperan que los oncólogos puedan utilizar esta información para determinar qué pacientes con cáncer de hígado pueden tener recurrencia y tratarlos para ayudar a prevenirla.

Ahora es posible explorar el genoma entero para ver los perfiles de expresión génica de tejidos que han estado fijados por un muy largo período de tiempo -tan largo como veinticuatro años, de acuerdo a lo que indica nuestro estudio-, dijo Todd R. Golub, investigador del Instituto Médico Howard Hughes que condujo el estudio. Hay muchísimos de esos tejidos disponibles en comparación con los tejidos congelados, y la disponibilidad de tejidos ha sido un verdadero cuello de botella en la investigación genómica del cáncer.

Los resultados fueron publicados el 15 de octubre de 2008, en una publicación adelantada en Internet de *New England Journal of Medicine*. Los autores formaron un equipo internacional que incluyó a colaboradores de Japón, España, Noruega e Italia.

El cáncer de hígado es la tercera causa principal de muerte por cáncer en el mundo. La mayoría de los cánceres de hígado primarios comienzan en células hepáticas llamadas hepatocitos. Este tipo de cáncer se llama carcinoma hepatocelular o hepatoma maligno. Aunque el cáncer de hígado a menudo se detecta en un estadio temprano, puede recurrir a pesar del diagnóstico y tratamiento tempranos. Si el cáncer recurre, frecuentemente resulta ser fatal.

Por décadas, los hospitales han almacenado muestras de tejido de biopsias y de cirugías remojándolas en una mezcla de formaldehído y agua (llamada formalina) y luego embebiéndolas en cera. Sin embargo, este tipo de almacenaje rompe el material genético en pedazos tan pequeños que son esencialmente inútiles para estudios genéticos, explicó Golub, investigador en el Instituto para el Cáncer Dana-Farber y en el Instituto Broad del Instituto de Tecnología de Massachusetts y de la Universidad de Harvard.

La investigación de Golub se basa en la premisa de que se pueden obtener pistas extraordinarias sobre la base molecular del cáncer al observar de forma global a los genomas de muestras tumorales. Para expandir el panorama de genomas cancerígenos, Golub y sus colegas utilizan microarreglos de ADN (chips de ADN) para analizar simultáneamente la expresión génica (actividad del gen) de miles de genes a lo largo del genoma humano. Esta técnica, iniciada por el investigador del HHMI, Patrick O. Brown, en la Universidad de Stanford, involucra la extracción del ARN mensajero (ARNm) de muestras de tumores, el marcado con fluorescencia del ARNm y la hibridación con el conjunto de sondas de ADN del chip de ADN. Al medir los niveles del ARNm de cada gen, los investigadores pueden determinar la actividad de los genes del tumor.

En promedio, las muestras de ARNm en tejido fresco tienen una longitud de alrededor de dos mil bases, dijo Golub. Pero cuando una muestra de tejido está fijada en formalina, el ARNm se parte en pequeños pedazos de una longitud de entre cincuenta y cien bases. Así que estas muestras no son apropiadas para la tecnología de microarreglos convencional.

Sin embargo, científicos de Illumina, Inc., en San Diego, habían desarrollado recientemente una forma de realizar análisis de expresión génica en estas muestras degradadas. La compañía había utilizado con éxito su técnica para estudiar niveles de expresión de varios cientos de genes en muestras fijadas

en formalina. Pensamos que podría funcionar para analizar el genoma entero, dijo Golub. Su meta era medir o deducir la actividad de aproximadamente 6.000 genes de las muestras -una gran mejora con respecto al método anterior-.

Para descubrir si eso era factible, el equipo de Golub observó muestras de tejidos de 307 pacientes enlistados en estudios de cáncer hepático en Tokio, Milán, Nueva York y Barcelona. Primero, analizaron las muestras de los tumores ellos mismos, buscando patrones de expresión génica que pudieran ayudar a predecir la recurrencia del cáncer. Uno pensaría que si se desea conocer la probabilidad de que un tumor vuelva, se debe observar el perfil genómico del tumor, dijo. No obstante, descubrimos que el perfil genético del tumor no predecía el resultado, la supervivencia o la recurrencia subsiguiente.

Sin embargo, el primer autor del artículo, Yujin Hoshida, sugirió que también analizaran la expresión génica en lo que parecía ser tejido hepático normal adyacente al tumor. Hoshida sabía que los investigadores del cáncer de hígado habían estado discutiendo una hipótesis de que un defecto general en el hígado podría predisponer a una persona al cáncer hepático. Esa teoría postula que tejido hepático que parece normal podría, en efecto, albergar anomalías genéticas detectables que darían lugar a tumores nuevos después de que el tumor principal es extirpado. El análisis de este tejido adyacente reveló características de expresión génica en 186 genes que se correlacionaron de forma confiable con una alta frecuencia de recurrencia tumoral.

Estos resultados indican que podría ser posible identificar a pacientes con riesgo de recurrencia y tratar a esos pacientes para ayudar a prevenirla, dijo. El hecho de que la información que nos permite hacer predicciones no provenga del tumor sino del tejido circundante podría ofrecer pistas importantes sobre el mecanismo del cáncer hepático.

En términos más generales, dijo Golub, esta técnica analítica se podría aplicar a cualquier tipo de cáncer. No sabemos si habrá una característica de recurrencia en el tejido no tumoral de, por ejemplo, el cáncer de mama, dijo. Pero ahora podemos explorar esa posibilidad. Golub observó que la técnica también abre el camino para el estudio genómico de muestras de tejido en enfermedades tales como la esclerosis múltiple.

En un editorial que acompaña al artículo en el *NEJM*, Morris Sherman de la Universidad de Toronto escribió que los resultados acercan un paso más la posibilidad de terapia individualizada para el carcinoma hepatocelular. Escribió que la nueva investigación ha abierto la puerta a la identificación de la expresión génica importante en la patogénesis del carcinoma hepatocelular a medida que se desarrolla a partir de un hígado sin tumores, así como también posiblemente inicie la investigación de un método molecular para determinar de forma más exacta quién tiene riesgo de desarrollo de carcinoma hepatocelular.

Golub dijo que el siguiente paso es analizar muestras de más pacientes para confirmar los resultados del cáncer de hígado. Dijo que no ve ninguna barrera

importante en traducir los resultados a una técnica de diagnóstico clínica, pero todavía existen algunas cuestiones técnicas que hay que resolver.

Golub y sus colegas en el Instituto Broad y en el Instituto para el Cáncer Dana-Farber colaboraron en los estudios con investigadores de la Facultad de Medicina Mount Sinaí en Nueva York; del Hospital Toranomon, en Tokio, Japón; del Instituto Nacional para el Cáncer en Milán, Italia; de la Universidad de Bergen, en Noruega; del Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas del Hospital Clínico de Barcelona, España; y el Instituto Catalán de Investigación Avanzada, en Barcelona.