

Hablemos de...

La proteómica en la investigación biomédica

FERNANDO J. CORRALES

Unidad de Proteómica. Fundación para la Investigación Médica Aplicada (FIMA). Pamplona. Navarra. España.

Puntos clave

● La medicina predictiva requiere la identificación de biomarcadores eficaces y específicos.

● El proteoma es el conjunto de proteínas de una célula, tejido u organismo.

● El proteoma es dinámico y su plasticidad asegura la capacidad de adaptación y supervivencia celulares.

● La proteómica permite definir patrones diferenciales de péptidos o proteínas específicos de una enfermedad o respuesta a un medicamento.

● El estudio del proteoma de biofluidos es especialmente relevante en biomedicina.

A pesar de la disponibilidad de métodos de última generación, que han supuesto un indudable avance en la detección y el tratamiento de enfermedades, la práctica clínica requiere aún del aporte de nuevas herramientas que permitan ahondar en el conocimiento de las enfermedades que todavía están sin resolver. El desarrollo de la proteómica ha creado nuevas expectativas en lo que se refiere al diagnóstico temprano de enfermedades, así como en el diseño de nuevas terapias, más eficaces y menos tóxicas, basadas en el descubrimiento de perfiles de proteínas diferenciales, específicas de cada estado patológico. Es indudable que la

La práctica clínica requiere aún del aporte de nuevas herramientas que permitan ahondar en el conocimiento de las enfermedades.

capacidad de analizar mapas globales de proteínas nos sitúa en una posición de ventaja sin precedentes en la detección de biomarcadores, pero no hay que olvidar que se trata de una disciplina nueva, aún llena de oportunidades, que, debido a su enorme complejidad, requiere de un esfuerzo coordinado

multidisciplinar que permita integrar las capacidades analíticas de los nuevos avances tecnológicos con la experiencia y el conocimiento de bioquímicos, médicos, físicos, bioinformáticos, etc., para asegurar el progreso de nuestro conocimiento de los sistemas biológicos y sus alteraciones que desembocan en enfermedades.

La capacidad de analizar mapas globales de proteínas nos sitúa en una posición de ventaja sin precedentes en la detección de biomarcadores.

Biomarcadores moleculares

Uno de los principales objetivos de la biomedicina moderna es definir los parámetros que permitan determinar con exactitud quién tiene una enfermedad o una predisposición a presentarla, qué pacientes pueden beneficiarse de un determinado tratamiento y cuáles serán los efectos no deseados de la terapia de elección en cada paciente. El término *biomarcador* se define como cualquier biomolécula o parámetro analítico que permita detectar o predecir el desarrollo de una enfermedad o la respuesta a un fármaco. Los recientes avances tecnológicos permiten obtener, más allá de la medición de parámetros de uso tradicional en la práctica clínica como la presión arterial,

El término biomarcador se define como cualquier biomolécula o parámetro analítico que permita detectar o predecir el desarrollo de una enfermedad o la respuesta a un fármaco.

el ritmo cardíaco, los valores de colesterol o glucosa, entre otros, una información mucho más precisa de cada individuo basada en la utilización de conjuntos de biomarcadores. Expertos en el sector de la industria farmacéutica opinan que estas estrategias tendrán un claro impacto en el sector del diagnóstico, aumentarán la eficacia de los ensayos clínicos y podrían llegar a redefinir el mercado de los medicamentos¹.

Por ello, existe un creciente interés en potenciar tecnologías como la genómica y la proteómica que analizan, respectivamente, la expresión de todos los genes de un sistema biológico o la abundancia de

La proteómica tendrá un claro impacto en el sector del diagnóstico, aumentará la eficacia de los ensayos clínicos y podría llegar a redefinir el mercado de los medicamentos.

miles de proteínas, en un único experimento. El objetivo es el desarrollo de herramientas predictivas más eficaces, basadas en paneles de biomarcadores deducidos a partir de los perfiles diferenciales de genes y proteínas que son característicos de una enfermedad o respuesta concreta.

Proteómica, traducción de genomas en funciones celulares

Es indudable que la secuenciación de los genomas de diferentes organismos, incluido el humano, junto con el desarrollo de técnicas que permiten estudiar la expresión de todos los genes de un organismo en un único experimento marcan un punto de inflexión en la forma de estudiar nuestra propia biología. Sin embargo, el genoma es estático y, por ello, sería simplista intentar explicar las alteraciones funcionales que condicionan las respuestas adaptativas o están asociadas a la progresión de enfermedades en el ámbito transcripcional únicamente, sin tener en cuenta la secuencia de procesos que se producen desde la transcripción de un gen hasta que su producto funcional, la proteína, es activo. Fenómenos como el procesamiento alternativo o las modificaciones postraduccionales generan un promedio de 6 especies proteicas a partir de un único gen, que realizarán la función biológica para la que han sido programadas con diferente grado de eficacia. Por ello, el análisis del proteoma es necesario para comprender las alteraciones funcionales asociadas al desarrollo de enfermedades.

El término proteómica fue introducido, por primera vez, en 1995, aunque el concepto apareció en la biología moderna unos años antes, cuando Anderson y Anderson² propusieron la creación de un atlas molecular de las proteínas humanas. La proteómica se define como el estudio del proteoma, término análogo a genoma, que se refiere al conjunto de proteínas de un orgánulo, una célula, un tejido o un organismo completo. El estudio del proteoma en toda su complejidad (cientos de miles de proteínas) supone un reto de una dificultad sin precedentes que ya se está abordando de forma coordinada en el ámbito mundial por la Human Proteome Organization (HUPO). Los experimentos de proteómica diferencial, cuyo objetivo es el descubrimiento de especies proteicas alteradas en una enfermedad, especialmente en biofluidos, quizás sean los más relevantes en biomedicina³, dado que los resultados que se derivan de ellos (no los experimentos de proteómica en sí) pueden tener una aplicación clínica inmediata.

Las modificaciones postraduccionales generan un promedio de 6 especies proteicas a partir de un único gen, que realizarán la función biológica para la que han sido programadas con diferente grado de eficacia.

La proteómica se define como el estudio del proteoma, término análogo a genoma, que se refiere al conjunto de proteínas de un orgánulo, una célula, un tejido o un organismo completo.

El estudio del proteoma de fluidos biológicos es de especial interés, porque permite obtener información del estado de todo el organismo mediante métodos no invasivos.

La tecnología SELDI-TOF, que permite automatizar la detección de patrones peptídicos específicos, se revela como uno de los candidatos más serios para una aplicación directa en diagnóstico clínico.

El estudio del proteoma humano requiere de un esfuerzo pluridisciplinar que integre los trabajos de expertos en el área de la biología, la informática, la física y la medicina.

Proteómica diferencial

En un experimento de proteómica diferencial podemos distinguir diferentes fases o procedimientos que requieren una precisa normalización y estandarización para asegurar la reproducibilidad del ensayo, ya que de ello depende, en gran medida, el éxito del análisis (fig. 1). El primer punto clave es la recogida y el almacenamiento de muestras biológicas, preservando la integridad del proteoma, con diagnósticos precisos que permitan establecer correlaciones entre los parámetros clínicos, histológicos y moleculares. El proteoma se solubiliza y resuelve utilizando la combinación de métodos analíticos multidimensionales que se ajusten al tipo de muestra que debe analizarse, en general, electroforesis bidimensional y/o procedimientos de cromatografía líquida. La comparación de los perfiles proteómicos o peptídicos obtenidos permite detectar las proteínas diferenciales características del caso en estudio, que posteriormente son identificadas y caracterizadas mediante técnicas de espectrometría de masas⁴.

La proteómica clínica está generando enormes expectativas y, en consecuencia, las plataformas proteómicas, en todas sus modalidades, se están aplicando cada vez más en la investigación del cáncer, las enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, etc.^{5,6}. El estudio del proteoma de fluidos biológicos es de especial interés, porque la obtención de la muestra que debe analizarse no requiere la utilización de procedimientos invasivos, y contienen miles de péptidos y proteínas que recogen información del estado de todo el organismo. Sin embargo, la tecnología disponible permite un análisis limitado, restringido a las proteínas mayoritarias. En el suero, por ejemplo, la albúmina y las inmunoglobulinas representan más del 60% del proteoma, lo que dificulta, enormemente, la detección de la mayoría de las proteínas, cuya representación conjunta es inferior al 1%⁷. La tecnología

SELDI-TOF, que permite automatizar la detección de patrones peptídicos específicos, se revela como uno de los candidatos más serios para una aplicación directa en diagnóstico clínico^{8,9}. Una vez definido el patrón peptídico que caracteriza un estado fisiopatológico, los análisis sólo requerirían una mínima cantidad de muestra y se realizarían en unos 30 min.

A pesar de que los recientes avances han aumentado enormemente el grado de eficacia de los análisis tanto de separación como de espectrometría de masas, la proteómica es un área emergente que integra múltiples tecnologías en continua evolución. Es necesario desarrollar nuevas técnicas que nos permitan explorar, con mayor precisión, el proteoma en todo su rango dinámico, algo especialmente importante en el estudio de biofluidos, así como herramientas bioinformáticas que permitan analizar, integrar, interpretar e in-

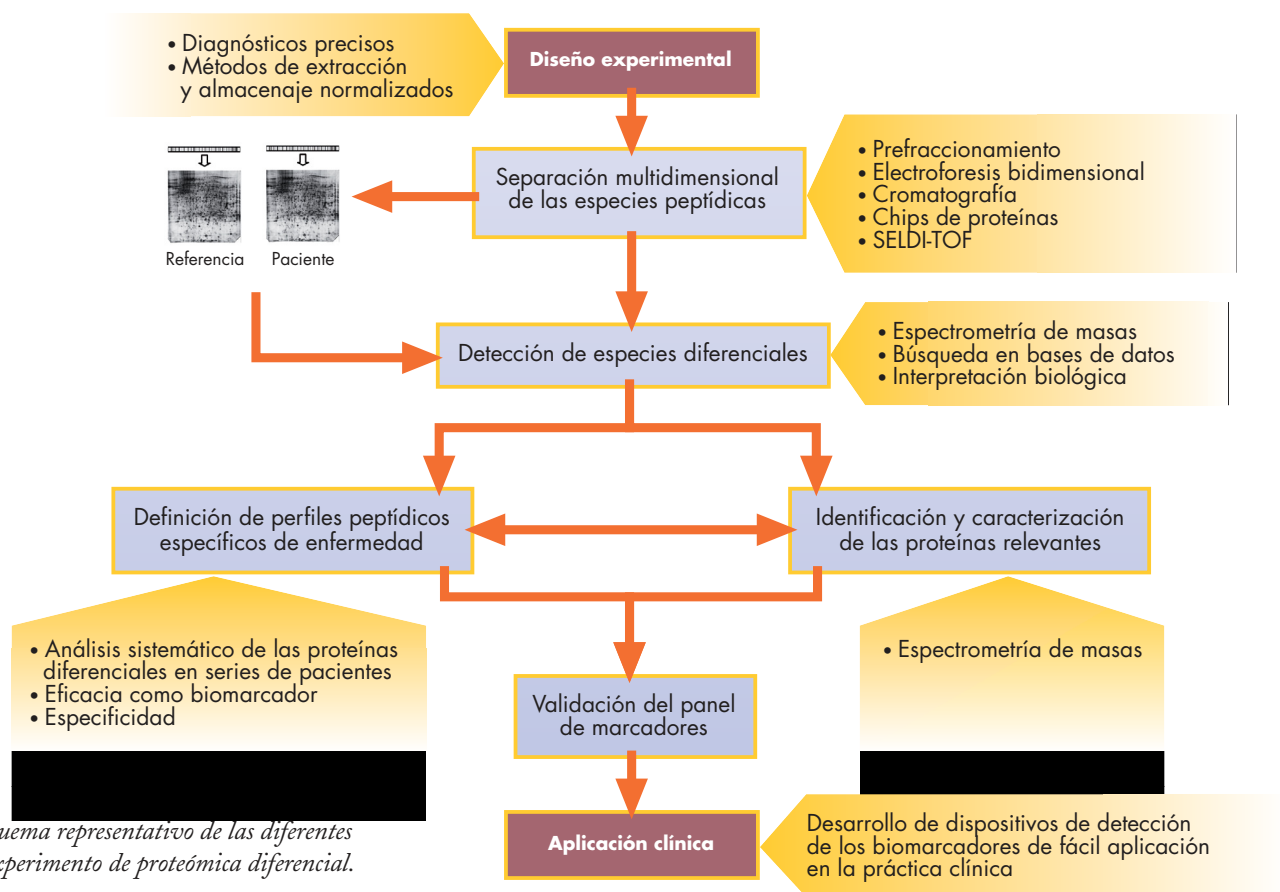


Figura 1. Esquema representativo de las diferentes etapas en un experimento de proteómica diferencial.

tercambiar los datos generados. Es evidente que el estudio del proteoma humano requiere de un esfuerzo pluridisciplinar que integre los trabajos de expertos en el área de la biología, de la informática, de la física y de la medicina y, así, generar nuevos conceptos en biología, identificar nuevas dianas diagnósticas y terapéuticas o determinar el mecanismo de acción de fármacos.

El análisis sistemático y cuantitativo de miles de péptidos y proteínas será una de las bases de la futura medicina molecular.

permite esbozar el escenario en el que se diseñarán estrategias terapéuticas más ajustadas a las características de cada individuo. A buen seguro, la proteómica junto con otras técnicas de alto rendimiento permitirán obtener una visión global de la biología celular y de sus alteraciones, aspectos que constituirán la base de la medicina molecular del futuro.

Conclusión

La historia natural de una enfermedad implica una progresión desde etapas tempranas, en las que produce una leve perturbación reversible de la homeostasis celular, hacia estadios avanzados que se caracterizan por un incremento progresivo en la dimensión e impacto de la alteración patológica, hasta que ésta se hace irreversible. Uno de los mayores retos de la medicina del siglo XXI es la identificación de biomarcadores que permitan el diagnóstico temprano y seguimiento de enfermedades, facilitando la intervención clínica apropiada, así como predecir respuestas a tratamientos farmacológicos. La proteómica permite definir paneles de biomarcadores deducidos a partir de los perfiles diferenciales de péptidos y proteínas característicos de una enfermedad o respuesta concreta. La capacidad de analizar miles de péptidos de forma sistemática y cuantitativa abre unas expectativas sin precedentes en el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico molecular multifactoriales y, por qué no,

Bibliografía

GH www.ghcontinuada.com
Encontrará enlaces a los resúmenes de esta bibliografía

● Importante ●● Muy importante

- Baker M. Biomarkers we trust? *Nature Biotech.* 2005;23:297-304.
- Anderson NG, Anderson L. The Human Protein Index. *Clin. Chem.* 1982;28:739-48.
- Lim MS, Elenitoba-Johnson KS. Proteomics in pathology research. *Lab. Invest.* 2004;84:1227-44.
- Corrales FJ, Ávila MA. Genómica y proteómica. En: Prieto JM, editor. *La Clínica y el Laboratorio*. Barcelona: Masson Elsevier; 2006.
- Banks RE, Dunn MJ, Hochstrasser DF, Sanchez JC, Blackstock W, Pappin DJ, et al. Proteomics: new perspectives, new biomedical opportunities. *Lancet.* 2000;356:1749-56.
- Chambers G, Lawrie L, Cash P, et al. Proteomics: a new approach to the study of disease. *J Pathol.* 2000;192:280-8.
- Righetti PG, Castagna A, Antonucci F, Piubelli C, Cecconi D, Campostri N, et al. Proteome analysis in the clinical chemistry laboratory: myth or reality? *Clin Chim Acta.* 2005;357:123-39.
- Petricoin EE, Pawletz CP, Liotta LA. Clinical applications of proteomics: proteomic pattern diagnostics. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2002;7:433-40.
- Petricoin EF, Liotta LA. Clinical proteomics: application at the bedside. *Contrib Nephrol.* 2004;141:93-103.

Actualización **Linfoma MALT**

Patogenia y epidemiología

F. Feu Caballé

Diagnóstico anatomopatológico

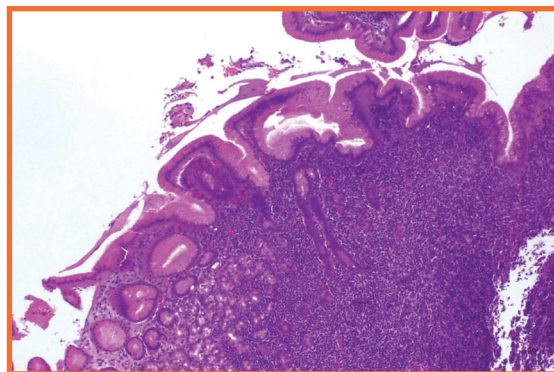
A. Salas Caudevila

Estrategia diagnóstica

C. Martín de Argila de Prados

Tratamiento

A. López Guillermo



Implicaciones clínicas de la investigación básica

La firma genética como herramienta diagnóstica en el hepatocarcinoma

J.M. Llovet

El lugar en terapéutica de...

Inmunosupresión sin esteroides después del trasplante hepático

I. Bilbao Aguirre

Revisión técnica diagnóstica

Proteína C reactiva

A. Gutiérrez

Ensayos clínicos y práctica clínica

Tratamiento "corto" en pacientes con hepatitis crónica C infectados por genotipos 2 o 3

A. López Morante

Prevención de...

Clínica de alto riesgo de cáncer colorrectal: un nuevo concepto de prevención

F. Balaguer Prunas

Ventana a otras especialidades

Manejo del síndrome de coagulación intravascular diseminada

F. Batlle Fonrodona

Hablemos de...

Biobank: un nuevo dispositivo para el investigador

M. Aymerich