

19 DE AGOSTO DE 04

## Dulce victoria al marcar la superficie celular

Investigadores del Instituto Médico Howard Hughes han transferido exitosamente moléculas de azúcares innaturales con grupos funcionales que son químicamente únicos a las superficies de las células de animales vivos sin alterar la fisiología de los animales.

El logro es un avance significativo en el nuevo y prometedor campo de la ingeniería metabólica porque proporciona una nueva herramienta para marcar células específicas en animales completos de modo que los investigadores puedan distinguir una célula de otra.

Los investigadores dijeron que la nueva metodología para marcar los azúcares de la superficie de la célula podría mejorar la comprensión de los procesos celulares fundamentales en los que se sabe los azúcares desempeñan una función importante, como por ejemplo en la interacción con patógenos y en la mediación de inflamación y enfermedades. La investigación también podría permitir una entrega más precisa de agentes químicos a tipos de células específicos en organismos vivos.

---

"Esperamos poder observar cambios en el patrón de glicosilación en un tejido a medida que un animal se desarrolla a través de las etapas embrionarias, a medida que se desarrolla una enfermedad o que los tumores se vuelven metastáticos."

- Carolyn R. Bertozzi

---

Los investigadores, conducidos por la investigadora del Instituto Médico Howard Hughes, Carolyn R. Bertozzi, en la Universidad de California, en Berkeley, publicaron sus resultados en el número del 19 de agosto de 2004, de la revista *Nature*.

“El método presentado por Bertozzi y sus colegas es notable como proceso químico”, escribió David A. Tirrell del Instituto de Tecnología de California en un artículo paralelo de la sección *News and Views* de *Nature*. “El hecho de que las transformaciones químicas específicas se pueden lograr ahora con control espacial y temporal en animales vivos es un adelanto importante para la química”.

La glicosilación consiste en la adición de grupos carbohidratos (azúcares) a una molécula. Se ha sabido por mucho tiempo que los patrones de glicosilación de las moléculas de azúcar de las superficies celulares pueden influir en la interacción entre las células. “Los glicobiólogos saben que las células cancerígenas, por ejemplo, presentan cambios en los patrones de glicosilación en comparación con sus contrapartes en tejidos sanos y normales”, dijo Bertozzi. “Y hay cambios en la glicosilación de los vasos sanguíneos ubicados en sitios de inflamación crónica que son característicos de enfermedades. Hay incluso algunos informes sobre cambios en la glicosilación en los cerebros de las personas que tienen enfermedad priónica o enfermedad de Alzheimer”, dijo.

Estudios adicionales sugieren que los patrones de glicosilación de células embrionarias podrían servir como marcadores del desarrollo porque cambian a medida que crece el embrión. Por lo tanto, el estudio de cambios en la glicosilación podría mejorar la comprensión del desarrollo embrionario.

Pero la función de las cadenas de azúcares de la superficie celular, llamadas polisacáridos, en las enfermedades se puede estudiar mejor en el contexto de múltiples células, dijo Bertozzi. “Toda la biología interesante que deseamos estudiar ocurre a nivel de organismos completos. Ésta es una característica general de la glicobiología; los polisacáridos ejercen su función en gran parte a nivel de sistemas”, dijo. Esto se contrapone a lo que sucede con muchas proteínas, tales como las enzimas, cuya función puede ser estudiada mediante la purificación y el análisis de moléculas individuales.

A pesar de lo prometedores que eran estos estudios, los investigadores se enfrentaron al gran desafío de encontrar los medios para marcar los azúcares de la superficie de las células con marcadores específicos para el estudio biológico. Los azúcares se sintetizan mediante vías metabólicas complejas, y se pensaba que la integración de un marcador con una molécula de azúcar específica interrumpiría de forma inevitable su procesamiento en la célula.

Para superar estos problemas, Bertozzi y sus colegas desarrollaron una técnica química para marcar los azúcares sin interrumpir la biología de la célula. La técnica también es altamente específica. La misma involucra la “alimentación” de una célula con un azúcar levemente modificado con un grupo químico llamado azida unida. Tales azúcares no se encuentran normalmente en las células, pero se procesan mediante vías metabólicas celulares de forma semejante a los azúcares normales y se incorporan a los polisacáridos de la superficie celular. Los investigadores pueden entonces marcar el “azúcar de azida” resultante “en la superficie celular tratándola con

una molécula llamada fosfina a la cual se puede unir cualquier molécula que se desee, como una molécula fluorescente que ayude a la visualización.

Esta reacción, llamada unión de Staudinger, es “bioortogonal”, dijo Bertozzi -lo que significa que no afecta la biología de la célula y que los componentes forman un enlace covalente entre sí de forma altamente selectiva-.

En la investigación publicada en *Nature*, Bertozzi y sus colegas describen el primer uso de su técnica ingenieril de la superficie celular en animales vivos. Previamente, sólo la habían aplicado a células de cultivo.

Inyectaron el azúcar azida en ratones y utilizaron la unión de Staudinger para unir una molécula de fosfina que llevaba una marca distintiva que les permitiría a los científicos detectar si había ocurrido la unión a la superficie de la célula.

Los investigadores encontraron que el azúcar azida llegaba a los órganos de ratón, era procesada químicamente de forma similar al azúcar normal y aparecía en la superficie celular. También encontraron que el azúcar innatural no causaba ningún efecto fisiológico adverso, incluso cuando se utilizaron dosis más elevadas.

“No nos sorprendió particularmente la carencia de toxicidad porque los azúcares innaturales no son conocidos por tener alta toxicidad”, dijo Bertozzi. “Y en la dosis más alta, la cantidad de azúcar que les dimos a los animales fue cerca de la que tiene una lata de refresco. Además, el componente azida ya se utiliza en drogas aprobadas clínicamente, tales como el AZT, que se toma en dosis mucho más altas”, dijo Bertozzi.

Los análisis de los científicos revelaron que los azúcares azida se encontraban en mayores concentraciones en el corazón, el riñón y el hígado, y en mucha menor cantidad en el cerebro y el timo. Estos resultados indican que podría ser posible la aplicación de esta técnica de marcación para estudiar la biología de otros órganos y para identificar los cambios que ocurren en órganos durante enfermedades tales como el cáncer.

Según Bertozzi, el poder aplicar la técnica en animales vivos tendrá implicaciones clínicas y de investigación importantes. “Desde nuestro punto de vista, una de las implicaciones más emocionantes de este trabajo es la posibilidad de realizar el procesamiento de imágenes de glicosilación en tiempo real dentro de organismos vivos”, dijo. “Esperamos poder observar cambios en el patrón de glicosilación en un tejido a medida que un animal se desarrolla a través de las etapas embrionarias, a medida que se desarrolla una enfermedad o que los tumores se vuelven metastáticos. Hasta este momento, no existía una técnica para realizar tal procesamiento de imágenes”.

Bertozzi y sus colegas están trabajando en sondas que se podrían unir a una fosfina, incluyendo las que se pueden utilizar en imágenes por resonancia

magnética, tomografía por emisión de positrón y tomografía computarizada por emisión de fotón único. También están desarrollando nuevas reacciones de unión bioortogonal con azidas que les darán técnicas de marcación de azúcares adicionales.