

28 DE ABRIL DE 2003

Purificación de proteína de señalización promovería el diseño de tejidos

La purificación de una poderosa molécula de señalización que hace que las células maduren también podría indicar el principio de una nueva era en el diseño de tejidos.

En estudios recientemente publicados en la revista *Nature*, los investigadores muestran que la proteína Wnt purificada, conocida por mucho tiempo como un potente activador de desarrollo y proliferación celular, también puede hacer que proliferen las células troncales que forman la sangre.

"En base a estos estudios, podemos pensar en aislar y amplificar las células troncales de un paciente usando las proteínas Wnt activadas antes de tratarlo con quimioterapia que destruye su sistema inmune."

— **Roel Nusse**

El descubrimiento sugiere nuevas formas para estimular a las células troncales para que restauren los sistemas de formación de sangre de pacientes cancerosos, cuyas células han sido destruidas por la quimioterapia.

La investigación sobre la activación de Wnt y su función promotora de desarrollo de células troncales que forman la sangre (hematopoiéticas) fue publicada en dos artículos relacionados publicados en Internet el 28 de abril 2003, en *Nature*.

El investigador del Instituto Médico Howard Hughes Roel Nusse y Karl Willert, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Stanford condujeron un equipo que publicó que la adición de una molécula lipídica es necesaria para la activación de las proteínas Wnt. Entre los coautores de ese artículo se encuentran Jeff Brown y Esther Danenberg, así como también investigadores del laboratorio de Irving Weissman, también de la Facultad de Medicina de Stanford. Weissman condujo a segundo grupo de científicos que publicaron en *Nature* que Wnt activada es crucial para la autorrenovación de las células

troncales hematopoiéticas. Los primeros autores de ese artículo fueron Tannishtha Reya y Andrew Duncan, quienes se encuentran ahora en el Centro Médico de la Universidad Duke.

Según Nusse, los investigadores no habían aislado proteínas Wnt activas anteriormente ¿objetivo buscado por mucho tiempo dado que las proteínas tienen una función importante en el desarrollo embrionario y en el control de la proliferación de células troncales?. Nusse y Harold Varmus, Presidente del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center y miembro del consejo médico del HHMI, fueron miembros de uno de los equipos de investigación que descubrió los genes Wnt. Identificaron los genes Wnt como oncogenes que se encuentran activos en el cáncer de mama de ratón.

Las células troncales embrionarias pluripotenciales son células inmaduras que tienen la capacidad de madurar originando una amplia gama de células sanguíneas y tejidos. Pueden ser clave para restaurar sistemas inmunes comprometidos e incluso regenerar tejidos y órganos dañados por enfermedades o traumas. Aunque se han aislado tales células troncales, su inducción para que proliferen de forma tal que puedan ser usadas en tratamientos sólo ha sido parcialmente exitosa.

"Siempre se ha predicho que las proteínas Wnt podrían actuar como factores de crecimiento que podrían ser agregados a las células para guiarlas hacia una vía de crecimiento particular sin modificar genéticamente a las células", dijo Nusse. Dijo que es clave para este proceso la purificación y caracterización de la forma activa de las proteínas Wnt, lo que ha resultado especialmente frustrante.

"Ahora comprendemos que esta proteína es modificada por la unión de un lípido luego de que es producida, lo que le otorga la tendencia a unirse a las membranas celulares donde se encuentra activa", dijo Nusse. "Sin embargo, esto significa que la proteína tampoco era soluble y que se pegaría a los recipientes, así que las técnicas estándares de purificación no funcionaban".

Nusse y sus colegas desarrollaron técnicas en las que utilizaban detergentes para solubilizar la proteína, y también análisis celulares robustos que medían la actividad biológica de la proteína. "Fue un verdadero desafío lograr que los métodos funcionaran", dijo Nusse, "lo que requirió todo tipo de trucos bioquímicos".

En su último trabajo, Nusse y sus colegas demostraron que un miembro de la familia de la proteína Wnt, Wnt3a de ratón, se activa por la unión de un lípido, llamado palmitoilo, a un aminoácido particular de la proteína. El lípido es necesario para la activación, al igual que la presencia del aminoácido al que se une, cisteína, que se encuentra conservado en todas las proteínas Wnt, dijo Nusse. Los investigadores bien podrían haber encontrado el mecanismo clave para la activación de una multitud de proteínas Wnt.

Luego, Nusse, Weissman y sus colegas estudiaron los efectos de la proteína Wnt activada en células hematopoiéticas troncales. Encontraron que la proteína incrementó en gran medida la proliferación de las células troncales

en el tubo de ensayo, mientras que mantuvo a las células troncales en su estado inmaduro. Los investigadores también observaron que las células troncales tratadas con Wnt conservaron su actividad y pudieron reconstituir los sistemas de producción de sangre de ratones que habían sido irradiados para destruir sus células hematopoiéticas.

El trabajo adjunto de *Nature* de Reya, Duncan, Weissman y colegas demostró que la vía de señalización de Wnt desempeña un papel crucial en la autorrenovación de las células hematopoiéticas troncales. Los investigadores demostraron que la proteína afectada específicamente por Wnt β -catenina es necesaria para la proliferación de las células troncales, al igual que la proteína Wnt misma.

"En base a estos estudios, podemos pensar en aislar y amplificar las células troncales de un paciente usando las proteínas Wnt activadas antes de tratarlo con quimioterapia que destruye su sistema inmune", dijo Nusse. "Esas células proliferativas podrían entonces proporcionar una vía poderosa para restaurar el sistema hematopoiético. Y dado que Wnt es un factor específico de crecimiento y no altera fundamentalmente la naturaleza de las células, no hay peligro que las células adquieran propiedades indeseadas".

Según Nusse, la sobreactivación de la vía de señalización de Wnt debido a mutaciones genéticas ha estado implicada en algunos cánceres. Dijo que, de esta manera, el descubrimiento de la naturaleza de la activación de Wnt en las células le permitirá a los investigadores imitar experimentalmente el proceso canceroso, para estudiar su mecanismo.

Nusse y sus colegas ahora están estudiando otras proteínas Wnt para determinar si requieren el mismo mecanismo para su activación y si ellas también puedan activar la proliferación de otros tipos de células troncales. De alguna manera, Nusse y sus colegas ya han empezado β en colaboración con el investigador del HHMI, Jeremy Nathans, de la Facultad de Medicina de la Universidad Johns Hopkins, ya han identificado a los receptores específicos en la superficie de la célula, conocidos como Frizzleds, a los cuales se unen las proteínas Wnt para activar a las células?

"También estamos intentando entender por qué las células responden a proteínas Wnt particulares observando la expresión del receptor específico para Wnts", dijo Nusse.