

**ELS PREMIS NOBEL  
DE L'ANY 2002  
SOBRE EL  
PREMI NOBEL DE MEDICINA  
CONCEDIT A  
SYDNEY BRENNER,  
H. ROBERT HORVITZ  
I JOHN E. SULSTON,  
A CÀRREC  
D'ALBERTO VILLANUEVA,  
DE L'INSTITUT CATALÀ  
D'ONCOLOGIA**

El Premi Nobel de Fisiologia o Medicina d'aquest any ha estat concedit a tres investigadors, dos anglesos, Sydney Brenner i John Sulston, i un nord-americà, Robert Horvitz. El Premi els ha estat concedit per la seva contribució en el descobriment dels mecanismes genètics que regulen la mort cel·lular programada o apoptosi, així com el desenvolupament dels òrgans. Però en aquesta història hi ha un quart guanyador del Premi Nobel, aquest és un cuc de nom *Caenorhabditis elegans*, més col·loquialment conegut per *C. elegans*, i que ha estat l'organisme model en què aquests investigadors han fet les seves descobertes.

Però, quan i per què comença aquesta història que ha culminat amb el Premi Nobel per a aquests investigadors? Tot comença entorn de l'any 1960, quan Sydney Brenner, un biòleg anglès, sud-africà de naixement, considerat un dels pares fundadors de la biologia molecular, començà el que avui coneixem amb el camp de *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), és a dir, es posà a treballar amb un cuc de poc més d'un mil·límetre i que viu al terra. Per què aquest interès a treballar amb cucs i no amb altres organismes? Brenner cercava un organisme model més senzill que *Drosophila* i més complex que els bacteris, amb el qual ell i altres investigadors poguessin estudiar el desenvolupament del sistema nerviós. I tal com ell mateix va dir recentment, quan li van donar el Premi Nobel, va encertar: «We wanted to find a good experimental organism that people could study, and it has proved to be right.» Nou anys més tard, l'any 1969, arribà al seu laboratori John Sulston, un dels seus primers estudiants i, com a becari, començà a treballar en l'anàlisi dels llinatges cel·lulars d'aquest cuc. Després de moltes, més ben dit, moltíssimes hores de microscopi, publicà l'any 1977 el procés de

com un ou de cuc fertilitzat es desenvolupa en un cuc adult, és a dir, fa els mapes per a arribar a les 959 cèl·lules que té un cuc adult.<sup>1</sup> Durant aquests anys d'intensa feina amb el microscopi, Sulston va fer importants observacions, com ara que durant el desenvolupament normal d'un cuc adult, les cèl·lules no es morien a l'atzar, sinó que ho feien seguint uns determinats patrons. Això és el que ell anomenà *mort cel·lular programada*. L'any 1974, Robert Horvitz s'incorporà al laboratori de Brenner, i, com a becari, ajudà Sulston a finalitzar el mapatge dels llinatges cel·lulars i, continuant amb les observacions de l'existència durant el desenvolupament del cuc d'una mort cel·lular programada, inicià els estudis genètics d'aquest procés. L'any 1986 publicà a la revista *Cell* la descripció dels primers gens coneguts —*ced-3* i *ced-4*— responsables de produir aquest procés de mort cel·lular programada.<sup>2</sup> Després demostrà que els homes tenim un gen homòleg a *ced-3* i que la mort cel·lular programada es dona mitjançant els mateixos mecanismes en diferents organismes, incloent-hi l'home. Els darrers anys ha estat pioner en la descoberta dels diferents components responsables de l'apoptosi. Sulston, Horvitz i Brenner han estat clau per tal que l'any 1999 s'aconseguís un fet històric: seqüenciar el genoma complet de *C. elegans*, i esdevé així el primer organisme pluricel·lular del qual es coneix el genoma. Aquest fet, que ha estat essencial per a aconseguir la seqüenciació del genoma humà i del ratolí, no ha estat considerat per la comissió que concedeix el Premi Nobel.

Qui és *C. elegans* i com ha permès descobrir aquests mecanismes? *C. elegans* és un petit cuc d'aproximadament 1-1,5 mil·límetres que, de manera natural, viu al terra i que

1. J. E. SULSTON i H. R. HORVITZ, *Dev. Biol.*, núm. 56 (1977), p. 110-156.

2. H. M. ELLIS i H. R. HORVITZ, *Cell*, núm. 44 (1986), p. 817-829.

el podem fer créixer fàcilment al laboratori donant-li bacteris per a menjar. Hi ha dos sexes, els hermafrodites i els mascles, els quals es poden diferenciar molt clarament. La majoria de cucs són hermafrodites, és a, dir els seus òvuls són fecundats amb el seu propi esperma. Els mascles apareixen amb una proporció aproximada d'un cada dos mil hermafrodites. Quan un cuc hermafrodita és fecundat per un mascle, el cuc hermafrodita deixa d'utilitzar el seu propi esperma i utilitza el del mascle, aquest fet és bàsic per a poder encreuar les diferents soques de cucs. Els hermafrodites poden pondre al voltant d'uns tres-cents ous durant el seu període reproductiu. Un cuc adult es formarà després de passar per quatre estadis descrits com a larvals L1, L2, L3 i L4, tot i que no hi ha un procés de metamorfosi. Quan el cuc arriba a l'estadi L2 té dues opcions, o continuar desenvolupant-se a cuc adult passant a l'estadi L3, o bé, si les condicions del medi no són les adequades per a continuar creixent, forma una larva de resistència, *dauer*, on pot aguantar un parell de mesos esperant que les condicions del medi millorin. Quan això passa es desenvolupa a estadi L4 i segueix el procés normal de desenvolupament.

Durant el desenvolupament del zigot, s'arriba al punt que es coneix com *de cinc cèl·lules*, conegudes com a *AB, MS, E, C, D i P4*, a partir de les quals es generaran tots els llinatges cel·lulars d'un cuc adult. La cèl·lula AB donarà lloc a 722 cèl·lules vives, de les quals 116 moriran per apoptosi; la cèl·lula MS donarà lloc a 266 cèl·lules, de les quals 14 moriran; la C donarà lloc a 47 cèl·lules, i només una morirà; mentre que, en el cas de les cèl·lules E i D, donaran lloc a 34 i 20 cèl·lules, respectivament, i cap cèl·lula no morirà. Així, de les 1.090 cèl·lules somàtiques que es generen, 131 moriran per apoptosi durant el desenvolupament normal d'un cuc. És important ressaltar que aquesta reproductibilitat de la mort cel·lular ha estat clau per als investigadors a l'hora d'identi-

ficar els mecanismes genètics de l'apoptosi, ja que l'aïllament de cucs, diguem malalts per l'apoptosi, i el seu posterior estudi genètic han permès la identificació dels gens que regulen el mecanisme de l'apoptosi, no només en els cucs, sinó també en l'home.

Com pot morir una cèl·lula? Essencialment hi ha dues maneres de morir, quan parlem de cèl·lules: *la necrosi* i *l'apoptosi*. La necrosi es caracteritza per una disgregació de la cromatina, una pèrdua de la integritat de les membranes cel·lulars, que dona lloc a una desintegració dels orgànuls, seguida per una ruptura de la cèl·lula i un alliberament del seu contingut cel·lular, fet aquest que dona lloc a una resposta immunitària. Contràriament, l'apoptosi es caracteritza per una condensació de la cromatina, un escurçament cel·lular, una conservació de les membranes cel·lulars i, per tant, dels seus orgànuls, seguida per una fragmentació de la cèl·lula. Aquests fragments seran ràpidament eliminats per fagocitosi/*engulfment*, cosa que evitarà que es produeixi la resposta inflamatòria.

Què és la mort cel·lular programada o apoptosi? L'apoptosi va ser descrita per dos patòlegs, Kerr i Searle el 1972, i deriva del grec *apo*, que significa 'des de', i *ptosis*, que significa 'col·lapse d'un òrgan o d'una part'. És un mecanisme d'eliminació tant de les cèl·lules inútils com de les potencialment perjudicials per a l'organisme i que es dona en la majoria dels organismes pluricel·lulars (amfibis, mamífers, etc.), tant durant el seu desenvolupament com al llarg de la seva vida. Podríem definir l'apoptosi com un *suïcidi cel·lular*, en el sentit que la cèl·lula que ha de morir participa activament en el procés, és a dir, freqüentment ella mateixa indueix la seva mort, així com la seva eliminació de l'organisme.

Com la mort és capaç de donar forma a la vida durant el desenvolupament d'un organisme? L'apoptosi és un procés fonamental per a aconseguir el correcte desenvolupament de

tots els éssers vius perquè participa en: a) *formació d'estructures*, com ara el cor del pollastre, els dits, el paladar i la retina del ratolí, etc.; b) *eliminació d'estructures*, com ara la cua i l'intestí de la granota, les glàndules salivals de les mosques, el teixit mamari del ratolí mascle, etc.; c) *control del nombre de cèl·lules* en el sistema nerviós del pollastre, els cucs, les mosques, els ratolins, etc.; d) *eliminació de cèl·lules anormals*, com ara les cèl·lules amb dany en el seu DNA, etc. Així doncs, la feina que fa l'apoptosi durant el desenvolupament d'un ésser viu, la podríem comparar amb la que fa un escultor quan esculpeix una figura de fang: inicia el procés amb un bloc de fang, fa un motlle i, posant i traient fang, va donant forma a la figura. Al principi fa grans canvis i, quan està més a prop d'acabar la figura, els canvis són cada vegada més subtils.

Per què és tan important l'apoptosi durant la vida dels homes? El control adequat de l'apoptosi és crucial, i les fallides dels mecanismes de regulació d'aquest procés donen lloc a tot un seguit de malalties que podem agrupar en dues categories: a) malalties generades per una inactivació de l'apoptosi, com passa en malalties com el càncer, la SIDA, així com diferents malalties autoimmunitàries; b) malalties generades per l'activació aberrant de la maquinària apoptòtica, com passa en tot un seguit de malalties neurodegeneratives.

Com ha estat possible passar de parlar d'un procés microscopi de mort cel·lular a parlar dels mecanismes moleculars que hi estan implicats? Els estudis genètics realitzats en el cuc han permès el descobriment de quinze gens implicats en l'apoptosi, coneguts com a *ced*, de l'anglès *deficient cell death*, i que es tradueix com a *mort cel·lular deficiënt*. Aquests gens són els responsables de la regulació, execució i resolució del procés de mort apoptòtica. Han estat dividits funcionalment en quatre categories basades en l'ordre de la seva actuació durant el procés de l'apoptosi (vegeu la figura 1): 1r, aquells que

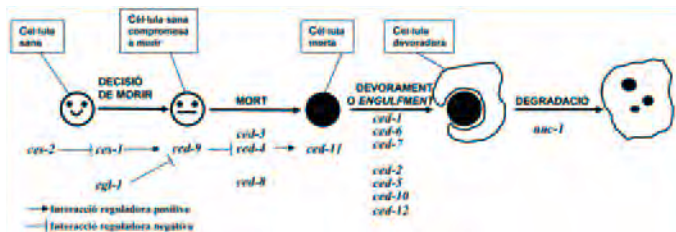


FIGURA 1. Procés de la mort cel·lular programada o apoptosi.

están implicats en prendre la decisió de morir (*ces-1* i *ces-2*); 2n, els que están implicats en el procés d'execució de la mort (*ced-3*, *ced-4*, *ced-9* i *egl-1*); 3r, els que están implicats en l'engulfiment o digestió de les cèl·lules mortes, per part de les cèl·lules veïnes (*ced-1*, *ced-2*, *ced-5*, *ced-6*, *ced-7*, *ced-10*, *ced-12*), i 4t, aquells que están implicats en la degradació i eliminació de les cèl·lules mortes o *engulfment* (*nuc-1*).

Com s'han generat els cucs amb mutacions en els gens clau per a l'apoptosi? El tractament de cucs normals amb determinats productes químics (metilsulfonat d'etil [EMS], formaldehid, etc.), així com el tractament amb llum ultravioletada ha permès generar i, posteriorment, aïllar cucs que macroscòpicament presentaven problemes en l'apoptosi. Després de creuar aquests cucs un mínim de deu cops amb cucs normals, amb la finalitat de netejar el seu genoma d'altres alteracions no associades amb el fenotip que estem estudiant, es va procedir a mapejar i caracteritzar els gens que estaven darrere del fenotip apoptòtic anòmal observat. Així es van identificar els gens *egl-1*, *ced-3*, *ced-4* i *ced-9*. Aquests són coneguts com *el cor* o *la maquinària bàsica de l'apoptosi*, pel fet que són requerits per a dur a terme l'apoptosi en totes les cèl·lules del cuc. Els cucs hermafrodites amb mutacions en els gens *egl-1*, *ced-3* i *ced-4*, o sigui, alteracions genètiques que produeixen la pèrdua de la funció de les proteïnes gene-

rades a partir d'aquests, tenen un problema en l'apoptosi que fa que les 131 cèl·lules que durant el desenvolupament d'un cuc normal haurien de morir, en el seu cas sobrevisquin. Això implica que aquests tres gens estan regulant el procés d'inducció de la mort cel·lular programada. Per contra, els cucs amb mutacions en el gen *ced-9* moren aviat durant el seu desenvolupament, a causa d'una massiva mort cel·lular. La generació de cucs on la proteïna CED-9 estava sempre activa va demostrar que aquest fet era suficient per a bloquejar completament la mort de les 131 cèl·lules que haurien d'haver mort. Aquests dos resultats, és a dir, la mort massiva que es dona en els cucs amb una pèrdua de la funció de *ced-9* i el bloqueig d'aquesta mort en els cucs amb un increment de la funció *ced-9*, van permetre concloure que *ced-9* era un gen supressor de la mort cel·lular programada.

Una vegada es van conèixer els gens que participaven en aquest mecanisme de mort, es van realitzar els estudis d'epístasi amb la finalitat de poder esbrinar l'ordre i les relacions funcionals entre aquests gens. Per a realitzar aquests estudis es varen creuar els cucs amb mutacions en els gens *egl-1*, *ced-3*, *-4* i *-9* entre ells, cosa que va generar els cucs dobles mutants: *-ced-4;ced-9*, *-ced-9;ced-3*; *-ced-9;egl-1*. Aquests complexos estudis van permetre establir l'ordre d'actuació: *egl-1* actua per damunt de *ced-9* que, al seu temps, actua per damunt de *ced-4* i *ced-3*. Per a aclarir l'ordre d'actuació de *ced-3* i *ced-4* es van generar cucs on se sobreexpressen aquests gens, i s'arribà a la conclusió que *ced-4* estava per damunt de *ced-3* i que aquest era clau per a disparar el procés de mort cel·lular. Altres experiments van demostrar que l'activitat de *ced-9* que tenen tots els cucs normals era suficient per a protegir les cèl·lules de la sobreexpressió de *ced-3*, la qual cosa demostrà que *ced-9* bloquejava l'apoptosi actuant per damunt de *ced-4*, que al mateix temps bloqueja l'activitat de *ced-3*. La sobreexpressió de *egl-1* produeix la



mort cel·lular en cucs normals i no ho fa en cucs que han perdut la funció *ced-3* i *ced-4* o que han guanyat la funció *ced-9*, cosa que demostra que *egl-1* actua per damunt dels altres tres gens/proteïnes. Tots aquests durs estudis genètics, no només per la feinada que representen, sinó també per a entendre'ls, juntament amb els estudis bioquímics, han permès arribar a conèixer el mecanisme molecular d'activació de la mort cel·lular programada en el cuc *C. elegans*. Així, en condicions normals, la proteïna CED-9 es troba ancorada a la cara externa dels mitocondris (orgànuls responsables del control del metabolisme de la cèl·lula, és a dir, són els reactors de la cèl·lula), unida a la proteïna adaptadora CED-4 (vegeu la figura 2). Quan els sensors de la cèl·lula capten algun tipus d'anomalia, transmeten aquests senyals a la proteïna EGL-1 que es troba al citoplasma de la cèl·lula i que serà l'encarregada d'iniciar la conversió d'aquests senyals

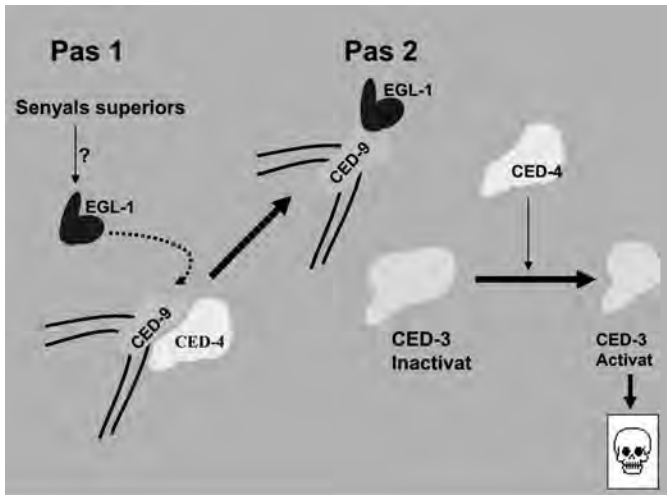


FIGURA 2. Model d'activació de la mort cel·lular programada o apoptosi a *C. elegans*.

anòmals en senyals de mort cel·lular. Aquest procés comença quan EGL-1 s'uneix a CED-9 i desplaça la proteïna adaptadora CED-4 del complex que formava amb CED-9. Aquest procés és la clau mestra que obre la porta de l'apoptosi, és a dir, en aquest punt la proteïna CED-4 pot activar la proteïna CED-3, moment aquest irreversible per a la cèl·lula, ja que CED-3 actua degradant tot un seguit de proteïnes clau per a la supervivència cel·lular. Però al mateix temps, l'activació de CED-3 també té altres conseqüències, com ara tot un seguit de redreçaments morfològics, degradació del DNA, però, probablement, el més important de tots és la generació dels senyals de «menja'm», és a dir, la cèl·lula que s'està morint ho comunica a les cèl·lules veïnes, i aquestes, en un apassionat i complicat procés conegut en els cucs com a *engulfment* i en els homes com a *fagocitosis*, es preparen per a menjar-se la cèl·lula, procés que explicarem una mica més endavant.

Què són les proteïnes CED-3, CED-4, CED-9 i EGL-1? Estan conservades al llarg de l'evolució? La maquinària bàsica de l'apoptosi descoberta en *C. elegans* i composta pels gens *ced-3*, *ced-4*, *ced-9* i *egl-1*, que estan altament conservats al llarg de tota l'escala evolutiva, de manera que es troben gens ortòlegs al llarg dels diferents grups de metazous.

— La proteïna CED-3 és una caspasa, és a dir, una proteïna que és capaç de tallar altres proteïnes en determinades seqüències d'aminoàcids, concretament en residus aspàrtics. Per què se la considera l'assassina de la cèl·lula? Se la considera l'assassina de la cèl·lula perquè és l'encarregada de digerir tot un seguit de proteïnes essencials per a la supervivència de la cèl·lula. A diferència dels cucs, on només s'ha identificat la proteïna CED-3 com a caspasa, en els mamífers s'han identificat fins a tretze caspases diferents. Totes les caspases madures actuen com a tetràmers formats per dues subunitats grans (17-22 kDa) i per dues subunitats petites

(10-12 kDa). Aquestes són sintetitzades com a zimogens i es caracteritzen estructuralment perquè contenen un prodomini, una subunitat gran i una de petita, i la seva maduració depèn de l'activitat d'altres caspases. Les caspases dels mamífers les podem dividir en dos grans grups: les que estan implicades en l'apoptosi i les que participen de la maduració de les citoquines, entre les quals hi ha les caspases -1, -4, -5, -11, -12 i -14. Dins de les que participen en l'apoptosi hi ha dos grans grups: a) Caspases iniciadores que es caracteritzen perquè tenen llargs prodominis, on tenen determinades seqüències d'aminoàcids, com ara els dominis CARD i DED, i que els permet interaccionar amb altres proteïnes de la cascada apoptòtica. Dins d'aquest grup hi ha les caspases -2, -8, -9 i -10; b) Caspases efectores, que són les caspases -3, -6 i -7 que tallen la majoria dels substrats apoptòtics coneguts.

— La proteïna CED-4 és una proteïna adaptadora o *scaffold* i té com a funció ajudar a l'activació de CED-3, fet que només es dona quan EGL-1 desplaça CED-4 del complex CED-4/CED-9 mitocondrial. En els mamífers s'ha identificat Apaf-1 com el seu homòleg, i de la mateixa manera que en els cucs, els ratolins *knock-out*, és a dir, que se'ls ha tret el gen *apaf-1*, tenen un dèficit d'apoptosi en determinats teixits. L'anàlisi del genoma de *C. elegans*, *Drosophila*, i de l'home, demostra l'existència d'un únic gen per a aquest tipus de proteïna, encara que sembla que en l'home s'han identificat dos gens, *flash* i *nod1/card4*, amb una certa homologia amb *ced-4*, però que no han estat caracteritzats *in vivo*.

— Les proteïnes CED-9 i EGL-1 formen part d'una gran família de proteïnes relacionades amb la proteïna antiapoptòtica Bcl-2 de mamífers. Aquestes proteïnes són reguladors essencials del procés apoptòtic, ja que, almenys, en les cèl·lules dels mamífers, regulen l'alliberament de citocrom c i altres factors promotors de l'apoptosi des de la mitocòndria fins al citoplasma de la cèl·lula. A causa de la seva funció en

interaccionar amb molts elements proapoptòtics, les mutacions en els seus gens tenen un gran impacte durant el desenvolupament embrionari, així com en diferents patologies. Partint de criteris funcionals i estructurals, la família de proteïnes Bcl-2 ha estat dividida en tres grups:

— Grup I: conté les proteïnes Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1, A1/Bfl1, Boo/Diva i Nrf3. Totes aquestes proteïnes antiapoptòtiques es caracteritzen per la presència de quatre petits dominis coneguts com a BH1, BH2, BH3 i BH4. La majoria d'aquestes proteïnes tenen en un dels seus extrems un petit domini per a ancorar-se a la superfície citoplasmàtica de determinats orgànuls, com la mitocondria i el reticle endoplasmàtic. En les cèl·lules de mamífers, el mecanisme pel qual les proteïnes d'aquest grup prevenen la mort cel·lular és mitjançant el segrestament de les proteïnes proapoptòtiques dels grups II i III que descriurem a continuació. Però s'han postulat altres mecanismes basats en observacions fetes a *C. elegans*.

— Grup II: conté les proteïnes Bax, Bak i Bok/Mtd. Aquestes proteïnes són molt similars en estructura i seqüència a les proteïnes del grup I, però, a diferència d'aquest grup I, han perdut el domini BH4. Aquest petit canvi estructural té dramàtiques conseqüències funcionals, perquè Bax i Bak són dos factors proapoptòtics molt potents. Tant que la seva activitat és necessària i possiblement suficient per induir l'alliberament de citocrom c des de la mitocondria.

— Grup III: és un gran grup de proteïnes proapoptòtiques que es caracteritzen perquè tenen un únic domini BH3, i inclouen les proteïnes Bid, Bad, Bik, Bim, Blk, Bmf, Hrk, Bnip3, Nix, Noxa i Puma. Aquestes proteïnes poden unir-se mitjançant el seu domini BH3 amb proteïnes dels grups I i/o II. Les proteïnes del grup III responen a una gran varietat d'estímuls proapoptòtics que van des de l'eliminació de factors tròfics fins a alteracions del citoesquelet i dany en el seu DNA, la qual cosa suggereix la seva participació en la integra-

ció d'un ampli ventall d'*inputs* pro- o antiapoptòtics i les converteix en un *output* de vida *versus* mort. En aquest model de funcionament les proteïnes del grup III serien els sensors, les del grup I els moduladors, i les del grup II l'*output* d'aquest esforç d'integració dels senyals.

Fins ara hem parlat dels mecanismes integrador i executor de l'apoptosi, però, com es regula l'apoptosi? I tota l'apoptosi està preprogramada? Encara que EGL-1 i les proteïnes CED-3, -4 i CED-9 estan implicades en totes les morts cel·lulars que es donen durant el desenvolupament de *C. elegans*, no totes les morts cel·lulars són regulades de la mateixa manera. Així, les proteïnes CES-1 i CES-2 regulen l'apoptosi únicament en determinades neurones. CES-1 és un factor de transcripció antiapoptòtic, mentre que CES-2, en similitud amb el gen humà E2A-HLF (producte d'un oncogen implicat en el desenvolupament de les leucèmies), és un factor proapoptòtic. Un altre exemple d'apoptosi cel·lular específica es dona en els ovaris dels cucs hermafrodites, on CED-3, CED-4 i CED-9 són importants per a l'apoptosi, mentre que EGL-1 no hi participa. Aquest cas d'apoptosi és molt interessant perquè és una apoptosi no preprogramada, i que es dona d'una manera adaptativa en resposta al dany en el DNA, l'edat dels cucs, així com en resposta a factors ambientals, i és regulada per la via Ras/MAPK.

Quan s'analitza l'apoptosi des d'una perspectiva comparada ens adonem que, a mesura que pugem en l'escala evolutiva, el nombre d'actors que intervenen en la pel·lícula *Apoptosi* cada cop és més gran, fet que fa que el marc d'actuació sigui cada cop més complex. Així, mentre que els mecanismes bàsics, o també coneguts com a *cor de l'apoptosi*, estan molt conservats, els mecanismes inductors i reguladors de l'apoptosi general i del teixit específic cada cop són més divergents. Així, ens trobem amb un seguit de qüestions per a les quals no tenim encara explicació: per què l'allibera-

ment de citocrom c de la mitocòndria és un factor proapoptòtic en les cèl·lules dels mamífers i no ho és en *C. elegans* i *Drosophila*? Per què ens trobem amb inhibidors de l'apoptosi, coneguts com a IAP en *C. elegans*, *Drosophila* i els humans, i només tenen funció com a tal en *Drosophila* i en l'home? Per què ens trobem amb els reguladors proapoptòtics GRIM, HID i RPR únicament en *Drosophila*? Per què no hi ha determinats receptors (com TNF-R, Fas-R) i pèptids (TNF, Fas), de gran importància en l'apoptosi de les cèl·lules de mamífers, en cucs i mosques? Totes aquestes preguntes i més ens donen una visió de la complexitat i encara el grau de desconeixement dels mecanismes reguladors de l'apoptosi.

Quan una cèl·lula ha mort per apoptosi, aquest procés finalitza amb l'eliminació de la cèl·lula morta de l'organisme? Com es produeix aquesta eliminació? I igual que hem descrit per al procés de mort, com es regula genèticament aquest procés? En l'home, les cèl·lules mortes són eliminades per cèl·lules especialitzades, pels fagòcits, mecanisme que es coneix com a *fagocitosis*. En el cuc *C. elegans* l'eliminació de les cèl·lules mortes la realitzen les cèl·lules veïnes, és a dir, a diferència dels mamífers no hi ha cèl·lules professionals per a dur a terme aquesta tasca, mecanisme que es coneix com a *engulfment*.

Tant l'*engulfment* com la fagocitosis no són uns mecanismes que s'activen un cop la cèl·lula ha mort, sinó que contràriament s'inicien quan a la cèl·lula apoptòtica s'activen els mecanismes d'execució de la mort, és a dir, en els cucs, quan CED-4 és capaç d'activar la proteïna executora CED-3, és en aquest moment quan es produeix el mecanisme de mort. Però, en paral·lel, la cèl·lula apoptòtica genera tot un seguit de senyals per a comunicar a les cèl·lules veïnes que s'està morint, transmetent el missatge de «menja'm», i per a facilitar el procés de reconeixement per part de la cèl·lula veïna o *engulfing cell*, posa aquest missatge de «menja'm» a

la part externa de la seva membrana exterior. Per la seva banda, la cèl·lula veïna ha de ser capaç de rebre i interpretar aquests senyals, transmetre'ls des de la seva membrana plasmàtica fins al seu interior, i llavors respondre. La resposta, que no és fàcil, ja que implica canvis morfològics, bioquímics i genètics, es dóna molt ràpidament, perquè en qüestió de minuts la cèl·lula morta desapareix.

Els estudis genètics realitzats en *C. elegans* han permès fins ara la identificació de set gens (vegeu l'esquema) agrupats en dues vies genèticament redundants i que regulen el procés d'*engulfment*: a) el primer grup, compost pels gens *ced-2*, *ced-5* i *ced-10*, que codifiquen respectivament per als gens homòlegs humans *CrkII*, *DOCK180* i *Rac1*. Tant en els mamífers com en els cucs, aquestes proteïnes formen un mòdul encarregat de transmetre la informació des de la superfície de la cèl·lula fins al seu citoesquelet, i d'aquesta manera induir els canvis requerits per la migració cel·lular i l'*engulfment*, i b) el segon grup, compost pels gens *ced-1*, *ced-6* i *ced-7*, un grup de gens menys coneguts funcionalment.

Quines tasques desenvolupen aquestes proteïnes? Començaré explicant la funció del segon grup de proteïnes, que tenen una funció més gran en el reconeixement de la cèl·lula apoptòtica, mentre que les del grup primer la tenen en la resposta de la cèl·lula devoradora o *engulfing cell*. CED-7 és una proteïna de la família de transportadors ABC i té una alta homologia amb la proteïna ABC1 dels mamífers. Aquesta proteïna, molt expressada en els macròfags, es creu que té un paper molt important per al reconeixement de les cèl·lules apoptòtiques, al mateix temps de tenir un paper molt important en el metabolisme del colesterol. Els estudis genètics realitzats en el cuc mostren clarament que la proteïna CED-7 té una doble funció, no només és important en l'*engulfing cell*, sinó també en la cèl·lula apoptòtica. El fet que CED-7 sigui important en la cèl·lula apoptòtica és sorprenent i

obre la possibilitat que CED-7 pugui tenir funcions diferents en les dues cèl·lules. El gen *ced-6* codifica per a una proteïna adaptadora que està conservada al llarg de l'evolució. La sobreexpressió de CED-6 i del gen homòleg humà tant en cucs com en mamífers promou l'*engulfment* de les cèl·lules apoptòtiques. Desafortunadament per a CED-6, no es coneixen ni les proteïnes activadores ni efectores amb les quals pugui interaccionar, és a dir, avui dia CED-6 és una proteïna adaptadora òrfena en espera d'adopció. El gen *ced-1* codifica per a una proteïna de transmembrana amb característiques de receptor. CED-1 té un domini citoplasmàtic que no mostra homologia amb cap de les proteïnes que avui dia coneixem, i per al qual no es coneix com ni amb quines altres proteïnes interaccionarà. Així, els estudis estructurals ens diuen que CED-1 interaccionarà amb algun tipus de lligand i això activarà CED-1, que transmetrà el senyal d'activació mitjançant proteïnes avui dia desconegudes, i en aquesta cascada de senyals, hi seran també CED-6 i CED-7. Possiblement, en els pròxims anys trobarem en el cuc la resposta a aquest enigma.

Una vegada les cèl·lules veïnes han rebut i interpretat el senyal de la cèl·lula apoptòtica, comença la resposta d'eliminació de la cèl·lula morta. Això s'aconsegueix estenent diferents braços citoplasmàtics al voltant de la cèl·lula morta, amb la finalitat d'incloure-la dins. Per a aconseguir això surten a escena tres proteïnes, CED-2/CrkII CED-5/DOCK180 i CED-10/Rac1, que generaran aquesta resposta regulant el citoesquelet de la cèl·lula. Una vegada això ha passat, surten a escena tot un seguit d'enzims encarregats de digerir la cèl·lula morta. Fins ara s'han identificat tres nucleases, o sigui, tres proteïnes encarregades de degradar el DNA de la cèl·lula morta, però els mecanismes que ho regulen no són ben coneguts. La funció de les caspases, altres proteases i de les lipases, tant en *C. elegans* com en els mamífers durant el



procés de l'*engulfment*/fagocitosi, és una altra caixa negra que espera ser oberta en els propers anys.

Per acabar, m'agradaria mencionar el fet que aquest Premi Nobel ha sigut un reconeixement implícit a l'aportació que els tres investigadors han fet en el camp de l'apoptosi, però aquest Premi significa alguna cosa més, és un reconeixement explícit a les altres importants contribucions al coneixement que els guardonats han fet des que l'any 1965 Sydney Brenner tingué la visió d'utilitzar *C. elegans* com a organisme model. I tal com ha dit Robert Waterson, director del Centre de Seqüenciació Genòmica de Washington: «Aquest Premi no és només un tribut als investigadors, sinó que també ho és al potencial del cuc.»