



Discursos pronunciados en el Acto de Investidura
del profesor

Dr. D. Robert Sackstein

como

Doctor Honoris Causa por la Universidad de Murcia

Murcia
26 de febrero de 2019

Universidad de Murcia
Servicio de Publicaciones, 2019

Depósito Legal: MU 207 – 2019

Imprime: Servicio de Publicaciones



ÍNDICE

José María Moraleda, <i>Laudatio in honorem</i> del doctor Robert Sackstein	9
Traducción al inglés de la <i>Laudatio in honorem</i> del doctor Robert Sackstein	27
Robert Sackstein discurso de Investidura como Doctor Honoris Causa	43
Traducción al castellano del discurso de Investidura como Doctor Honoris Causa	53

José María Moraleda

Laudatio in Honorem del doctor

Robert Sackstein

1.Introducción

Ilustrísimas autoridades, queridos colegas y amigos, es para mi un honor y una enorme satisfacción como médico universitario y como persona, hacer esta presentación dedicada al Profesor Robert Sackstein, como nuevo doctor Honoris Causa de la Universidad de Murcia.

El Dr. Sackstein es, desde el año 2012, catedrático de medicina en la Facultad de Medicina de Harvard. En 1997 fue nombrado Profesor asociado de esa Facultad, en el año 2003 Profesor Titular y finalmente catedrático en el departamento de Dermatología y Medicina.

Como probablemente todos ustedes conozcan, la carrera académica en la Universidad de Harvard, y en particular la de investigación, tiene los estándares de excelencia más exigentes del mundo. Cuando fue promovido a catedrático de la Universidad de Harvard, el jefe del departamento de Dermatología, el Profesor Thomas S. Kupper, indicaba que los méritos científicos del Dr. Sackstein, ya superaban con creces estas exigencias y apuntaba, además, su capacidad docente y la entrega permanente del Dr. Sackstein a sus pacientes y su pasión por la medicina.

Aunque estos y otros aspectos de su trayectoria científica los analizaremos con detalle, me gustaría destacar, además, su visión de la medicina clínica en íntima relación con las ciencias básicas. Probablemente, el Dr. Sackstein encarna la mejor definición del médico-científico, una figura de excepcional valor que conjuga la investigación en ciencias básicas con la asistencia clínica, y basa esta investigación en encontrar respuestas para los problemas de los pacientes, la denominada “investigación traslacional”. En ese tortuoso camino tuvimos un maestro común, el profesor E. Donnall Thomas, premio Nobel de Medicina en el año 1990 por sus trabajos pioneros en el desarrollo del trasplante de médula ósea, que fue el nexo de unión de nuestra filosofía común, nuestra colaboración científica y nuestra amistad.





En Murcia, realizamos el primer trasplante de médula ósea, no sin dificultades por la falta de medios, en Junio de 1991. El Dr. Thomas, con el que tuve el honor de formarme en los años 1993 y 1994 en el Fred Hutchinson Cancer Research Center de Seattle, donde coincidí por primera vez con el Dr. Sackstein, vino a Murcia en el año 1995 a inaugurar la primera Unidad de Trasplante de Médula ósea, que se construyó en el Hospital General Universitario gracias a la ayuda de la Fundación Española para la Lucha contra la Leucemia liderada por los Dres. Domingo Aranda y el Dr. Antonio López Bermejo de Caravaca (Figuras 1 y 2). A este viaje del

DIARIO 16 LA REGIÓN
Sábado 27 Abril 1996

El cordón umbilical, futuro incierto de los trasplantes

El premio Nobel de Medicina ofreció ayer una conferencia sobre las últimas investigaciones para combatir la leucemia

LOURDES AZNAR
Murcia

El Nobel de Medicina Donald Thomas habló ayer en Murcia sobre el importante desarrollo de las líneas de investigación de las células de los cordones umbilicales para los trasplantes de médula ósea. Donald indicó que la tecnología aplicada contra esta enfermedad con células del cordón umbilical cuenta con "un enorme futuro, pero debe ser explorada durante más tiempo, ya que mientras no haya más experiencia clínica, el uso de estas células para trasplantes de médula ósea no sustituirá al actual sistema, que utiliza células medulares humanas".

Asimismo, indicó la necesidad existente de este tipo de donaciones en todos los países aunque en la actualidad ya existe en Nueva York dos bancos que conservan 20.000 muestras de esas células, y 40 de ellas han sido utilizadas para trasplantes de médula. "Probablemente necesitamos de ambos medios, que no son excluyentes, porque aún habrá pacientes que no tengan donantes, y es una teoría atractiva pensar que quien sea tratado por medio de un cordón umbilical, probablemente tendrá menos reacción contra el donante, pero no sabemos con seguridad si esto ocurrirá así", explicó el



THOMAS El premio Nobel de Medicina fue invitado por la Fundación Española contra la Leucemia.

premio Nobel. Otra ventaja de usar el cordón umbilical deriva de que este habitualmente se tira y, sin embargo, es asequible, ya que nacen muchísimos niños diariamente en el mundo y, obviamente, se trata de una fuente fácil de hacerse con él.

El profesor y científico aclaró que la utilización de los cordones umbilicales

tiene la ventaja de que evita a los donantes tener que ir al quirófano, lo que no es deseable, y el "potencial inconveniente de que no sabemos si hay un número suficiente de células en el cordón umbilical como para trasplantarlas a un adulto" que lo necesita. Asimismo indicó que los 40 trasplantes que se han utilizado hasta ahora se han hecho en niños, y usar como

frente el cordón umbilical puede que no sea suficiente para un trasplante en un adulto, aunque hay potenciales ventajas, hay potenciales inconvenientes y necesitamos más datos antes de utilizarlo de forma estándar.

El premio Nobel fue invitado a Murcia por la Fundación Española para la Lucha contra la Leucemia.

Figura 1: Inauguración de la Unidad de Trasplante por el Dr. E. Donnall Thomas. 1996. Periódico Diario 16, *La Región*



Figura 2: Dr. E. Donnall Thomas, Dr. Robert Sackstein, Dr. Jose M. Moraleda

Dr. Thomas se incorporó el Dr. Sackstein, lo que nos dio oportunidad de compartir las inquietudes de nuestros pacientes, los proyectos de investigación y de fomentar la estrecha relación científica y personal que el Dr. Sackstein ha tenido todos estos años con la Universidad de Murcia. A partir de entonces la colaboración científica del Dr. Sackstein con Murcia se ha ido incrementando y podemos decir, sin temor a equivocarnos, que su intervención ha sido fundamental para el establecimiento de la relación institucional que actualmente mantiene la Universidad de Murcia con la Universidad de Harvard. Además, su generosidad y dedicación a nuestra Facultad de Medicina, ha sido continuada, permitiendo la formación de alumnos murcianos de pregrado y postgrado en su laboratorio, y siendo co-director del curso de verano “Trasplante y Terapia Celular: from the Bench to the Bedside” desde su primera edición hace 12 años. Finalmente, la colaboración científica entre nuestros grupos, y su generosa ayuda en compartir conocimientos, ha permitido que en Murcia se desarrollen ensayos clínicos pioneros en el mundo, con la tecnología que él ha patentado y en los que colaboran equipos multidisciplinares de nuestra facultad y del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Por tanto, Robert, en este acto académico, la Universidad de Murcia quiere reconocer tus méritos científicos y especial dedicación a esta Universidad a cuya comunidad académica te incorporas oficialmente, aunque funcionalmente y de corazón ya llevas muchos años entre nosotros. Bienvenido a casa, profesor Sackstein.

2. Curriculum vitae. Impacto científico y académico

El Dr. Sackstein emigró de Cuba a Miami cuando era un niño, en situación económica muy compleja, que le obligó a realizar diferentes trabajos al mismo tiempo que realizaba su formación en la escuela pública elemental y secundaria, donde obtuvo excelentes resultados. Gracias a ello pudo asistir al colegio de Harvard, donde obtuvo su bachillerato en 1977 (AB, 1977, *Summa cum Laude*), y posteriormente accedió a la Facultad de Medicina de Harvard, donde obtuvo los grados de licenciado y doctor. Realizó su tesis doctoral en el laboratorio del Prof. Harvey R. Colten, donde realizó investigaciones muy relevantes sobre la estructura y expresión de los genes del complemento del sistema mayor de histocompatibilidad. Estos trabajos fueron publicados en diferentes revistas de alto impacto incluyendo la revista *Cell* (*The Journal of biological chemistry*. 1983; 258(23):14693-7 y *Cell* 1984; 37(2):569-76). Durante esta etapa ganó reputación internacional en el campo de la investigación sobre el complemento, siendo invitado especial del Simposio mundial sobre complemento realizado en Alemania en 1983, y autor invitado en *Immunological Reviews* (*Immunological reviews*. 1985; 87:185-208). Además, recibió el premio James Tolbert Shipley al mejor trabajo de investigación a un estudiante tras su graduación con dos grados profesionales, MD, y PhD, de la escuela de Medicina de Harvard en 1985.





En el periodo 1985-89 el Dr. Sackstein realizó su residencia en Medicina Interna, siendo jefe de residentes en el Miami/Jackson Memorial Hospital. Durante sus años de residencia realizó una estancia post-doctoral en el laboratorio del Dr. Yee Hon Chin, en el Departamento de Microbiología e Inmunología en la Universidad de Miami. Durante su estancia el Dr. Sackstein clonó el gen que codifica la molécula de adhesión L-selectina de la rata, y también realizó las primeras observaciones de los cambios que se producen en la dermatitis de la psoriasis y que determinan la migración de los linfocitos a la piel (Sackstein R, Falanga V, Streilein JW, Chin YH. Lymphocyte adhesion to psoriatic dermal endothelium is mediated by a tissue-specific receptor/ligand interaction. *J. Invest Dermatol.* 1988; 91:423-430). Estas primeras contribuciones al conocimiento de las moléculas de adhesión que regulan el tráfico de los linfocitos en el ganglio linfático y la piel fueron determinantes en el enfoque de su carrera científica hacia la fisiología y patobiología de las moléculas de adhesión, que dirigen el tropismo hacia los tejidos de los leucocitos maduros, y las células madre hematopoyéticas en los seres humanos.

En 1989, el Dr. Sackstein recibió el premio “Veterans Affairs Career Development Award” y fue designado Profesor Titular de Medicina, Microbiología e Inmunología en la Universidad de Miami. Ese mismo año comenzó su residencia en Hematología consiguiendo su título dos años más tarde. Durante estos años en la Universidad de Miami el Dr. Sackstein colaboró en el inicio del programa de trasplante de médula ósea y fue director del programa de linfoma de la piel en el “University of Miami Comprehensive Cancer Center”. Además, recibió numerosos premios y reconocimientos por sus importantes contribuciones clínicas, docentes e investigadoras y por sus trabajos en la comunidad. En particular, recibió el premio “George Paff” por su excelencia docente, el codiciado premio “Stanley Glaser” por sus logros en innovación e investigación, y el premio “Peace and Unity” de la archidiócesis de Miami, por su trabajo en la creación (sirviendo en el cargo de director médico adjunto) de una clínica de atención médica gratuita para tratar a las personas sin seguro médico en Miami, llamada “Camillus Health Concern”. Más adelante mencionaremos más datos sobre el compromiso profundo y constante del Dr. Sackstein con el servicio a la comunidad, pero cabe resaltar que su compañero en la fundación de esta clínica, el Dr. Joe Greer, recibió por este proyecto y el trabajo realizado, la Medalla Presidencial de la Libertad 2009 de manos del presidente Barack Obama.

En 1993, el Dr. Sackstein fue nombrado Director de los Laboratorios de Investigación de Inmunología de Trasplantes de la Fundación Jenkins en el “Moffitt Cancer Center” de la escuela de Medicina de la Universidad de Florida del Sur. Allí ejerció su labor como Profesor Titular de Medicina, Anatomía Patológica y Medicina de laboratorio, y fue director científico del equipo de trasplante de médula ósea desde 1993 hasta 1997. Durante ese tiempo, los esfuerzos del Dr. Sackstein como

médico clínico y científico básico se mezclaron íntimamente, con el único objetivo de mejorar los resultados de los pacientes sometidos a trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH). De este modo sus investigaciones se enfocaron en el estudio de las bases moleculares de los efectos de los corticosteroides en la redirección del tráfico de los linfocitos, en las moléculas de adhesión que regulan la migración de los linfocitos a los tejidos diana de la enfermedad injerto contra huésped aguda (EICHa), y sobre el papel de la L-selectina en la hematopoyesis. En base a sus observaciones clínicas y sus estudios de laboratorio sobre las células madre hematopoyéticas y linfocitos humanos, realizó aportaciones fundamentales al conocimiento de las moléculas de adhesión que dirigen el tráfico de las células madre a la médula ósea, y el tráfico de los linfocitos después del TCMH, y sobre el papel de estas moléculas en las complicaciones que sobrevienen tras el TCMH, como la EICHa y la púrpura trombótica trombocitopenica (PTT). Estos hallazgos abrieron nuevos enfoques para mejorar el injerto hematopoyético después del trasplante y para el tratamiento de la EICH y la PTT, y supusieron su reconocimiento internacional, incluyendo la concesión del Premio Joven Investigador de la Sociedad Internacional de Hematología Experimental. Pero por encima de la innegable importancia de estas contribuciones, sus mayores logros, en términos de originalidad e impacto científicos, han sido sus aportaciones a la bioquímica y biología estructural de los ligandos de las selectinas.

Los hallazgos del Dr. Sackstein han tenido un impacto significativo en nuestra comprensión de la biología estructural de las selectinas y sus ligandos, en la fisiología y patobiología de la migración de linfocitos, y en la base molecular del tráfico o “homing” de las células madre hematopoyéticas y su proliferación / diferenciación.

Las selectinas son una familia de tres lectinas de tipo C que se unen a estructuras de carbohidratos sialofucosilados, cuyo prototipo es un tetrasacárido llamado sialil Lewis X (Figura 3). A principios de la década de 1990, el Dr. Sackstein realizó la primera observación de que las células madre hematopoyética (CMHs) humanas mostraban un ligando de L-selectina y, de igual importancia, que esta molécula era una glicoproteína estructuralmente diferente a cualquier otro ligando de L-selectina descrito previamente (Oxley SM, Sackstein R. Detection of an L-selectin ligand on a hematopoietic progenitor cell line. *Blood* 1994; 84:3299-3306; Sackstein R, Fu L, Allen KL. A hematopoietic cell L-selectin ligand exhibits sulfate-independent binding activity. *Blood* 1997; 89:2773-2781; Sackstein R, Dimitroff CJ. An hematopoietic cell L-selectin ligand that is distinct from PSGL-1 and displays N-glycan-dependent binding activity. *Blood* 2000; 96:2765-2774). Hasta ese momento, los ligandos de L-selectina solo se habían descrito en células endoteliales, y este hallazgo, así como las características estructurales únicas de este “ligando putativo”, fuera de los paradigmas existen-





tes, se encontraron con un excepticismo inicial por parte de la comunidad científica. Su persistencia y sus meticulosos estudios bioquímicos definieron la novedosa biología estructural de este ligando de L-selectina, y logró identificar esta estructura después de ocho años de trabajo intensivo (Dimitroff CJ, Lee J, Fuhlbrigge RC, Sackstein R. A distinct glycoform of CD44 is an L selectin ligand on human hematopoietic progenitor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000; 97:13841-13846; Dimitroff CJ, Lee JY, Rafii S, Fuhlbrigge RC, Sackstein R. CD44 is a Major E-selectin Ligand on Human Hematopoietic Progenitor Cells. *J. Cell Biology* 2001; 153: 1277-1286). Con el fin de identificar esta molécula, el Dr. Sackstein creó una tecnología novedosa conocida como el "blot rolling assay" o ensayo de rodamiento de células en el papel de Western blot que describiré brevemente para proporcionar el contexto adecuado a esta contribución muy innovadora a la investigación de moléculas de adhesión.

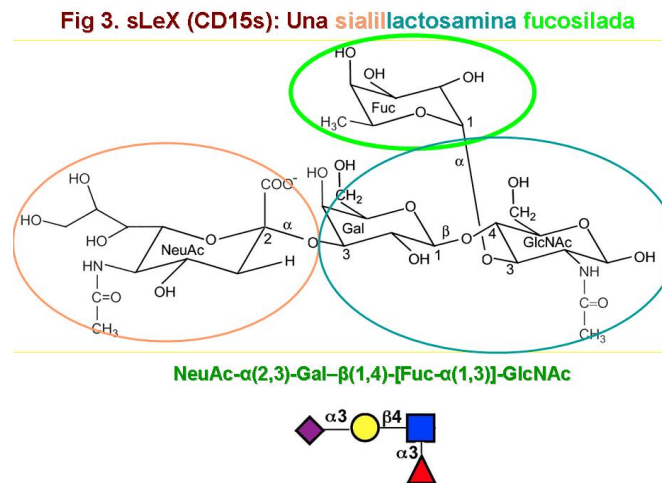


Figura 3: Selectinas. Sialil Lewis X (sLeX)

En general, las selectinas (y especialmente la L-selectina) requieren un umbral hemodinámico de corte para acoplarse a sus ligandos afines. En consecuencia, los ensayos estáticos, como los "ligand blots" (en el papel de Western blot), no pudieron identificar el ligando de L-selectina detectado por el Dr. Sackstein en las CMHs humanas, y esta estructura tampoco se pudo aislar utilizando técnicas de inmunofluorescencia convencionales. A pesar de la clara evidencia funcional de su existencia en ensayos basados en cizallamiento, años de arduos estudios bioquímicos, y múltiples intentos de producir anticuerpos, no revelaron su identidad. Mientras realizaba estudios bioquímicos para caracterizar la estructura de hidratos de carbono del ligando, el Dr. Sackstein observó que la actividad del ligando en las preparaciones de membranas de las CMHs se conservaban a pesar de la ebullición a 100 ° C, suspendiendo las membranas en SDS al 10% y reduciendo las proteínas de membrana en mercaptoetanol al 5%. El Dr. Sackstein luego dio un salto conceptual crítico: debido a la preservación observada de la actividad funcional del ligando L-selectina a pesar de la desnaturalización de la proteína, postuló que la función del ligando se preser-

varía en condiciones estándar de SDS-PAGE, y durante la posterior transferencia de las proteínas de membrana separadas por electroforesis a los papeles de transferencia de Western blot. Este concepto se probó primero utilizando "Western blot" de proteínas de membrana de CMHs humanas en condiciones de ensayo convencionales de L-selectina (ensayo de Stamper-Woodruff), y los resultados mostraron que la actividad del ligando estaba intacta. Para identificar mejor la actividad del ligando de L-selectina dentro de las bandas de proteína de la membrana de las células inmovilizadas por transferencia en el papel del Western blot, el Dr. Sackstein se unió al Dr. R. Fuhlbrigge para adaptar el aparato de cámara de flujo de placa paralela estándar para acomodar los papeles de transferencia. Esta modificación permitió la observación directa y en tiempo real de las interacciones adhesivas entre las células en el flujo de cizallamiento y las proteínas inmovilizadas en los papeles de transferencia, y el Dr. Sackstein denominó el método "The Blot Rolling Assay". Esta poderosa técnica ha conducido posteriormente a la identificación de varios ligandos de selectina previamente desconocidos en leucocitos y células cancerosas. La principal ventaja de este método es que permite la evaluación rápida y reproducible de la actividad del ligando de selectina entre las moléculas de adhesión conocidas y desconocidas dentro de una mezcla compleja, bajo una tensión de cizallamiento funcional apropiada, sin la necesidad de un aislamiento o enriquecimiento previo de las partes constituyentes, más allá de la electroforesis. El papel de transferencia ("blot"), se hace semi-transparente mediante preincubación en tampones que contienen glicerol, y las células o partículas (p. ej., microperlas) que contienen las moléculas de adhesión de interés se introducen en condiciones de flujo fisiológicas controladas, y se observan mediante microscopía de video para la interacción con los ligandos inmovilizados. Las interacciones de frenado y rodamiento ("tethering and rolling") se observan directamente en las bandas pertinentes. La (s) banda (s) que contienen tales interacciones adhesivas pueden luego ser aisladas y sometidas a espectrometría de masas o secuenciación de proteínas para su identificación. Esta técnica es ahora una herramienta histórica explotada por otros grupos de investigación, y fue desarrollada específicamente por el Dr. Sackstein para identificar el nuevo ligando de selectina expresado en las CMHs humanas.

La molécula que el Dr. Sackstein descubrió, ahora conocida como "Ligando de selectina E / L de células hematopoyéticas" (en inglés "Hematopoietic Cell E-/L-selectin Ligand", HCELL), no es una proteína "nueva", sino más bien una nueva glicofoma de una proteína de membrana integral, el CD44. CD44 es mejor conocido por ser el principal receptor del ácido hialurónico, pero el trabajo del Dr. Sackstein demostró que la glicofoma CD44 de las CMHs humanas (HCELL) está especializada en funcionar como un ligando muy potente tanto para la E-selectina como para la L-selectina. HCELL solo se expresa en las células progenitoras hematopoyéticas humanas más primitivas, y es el ligando de selectina E y L más potente expresado de for-



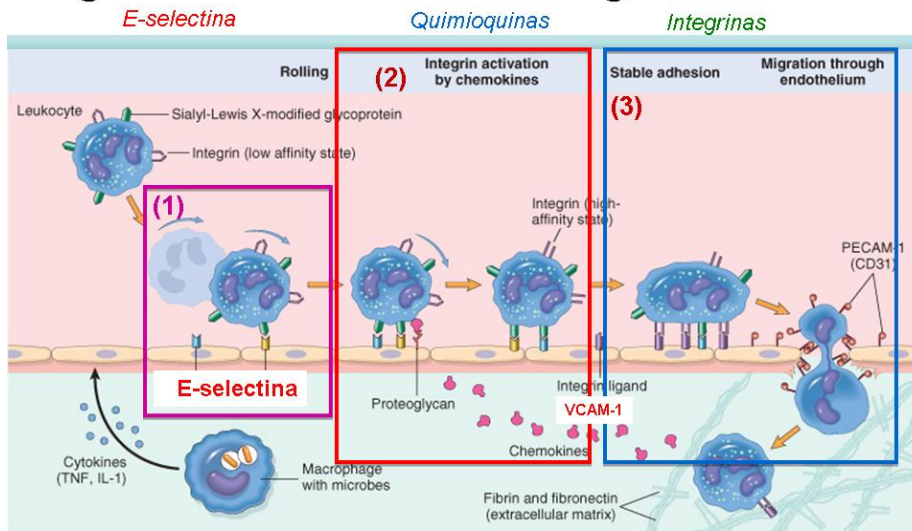


ma natural en cualquier célula humana. La E-selectina es típicamente una proteína endotelial inducible, pero, en particular, se expresa de forma constitutiva en la microvasculatura de la médula ósea, donde se cree que desempeña un papel importante en la mediación de la migración de las células madre hacia la médula ósea. Los descubrimientos del Dr. Sackstein implicaron, por lo tanto, un papel para el CD44 como un "receptor de migración a la médula ósea", y brindó una nueva comprensión de la biología del CD44 en los eventos hematopoyéticos. Es importante destacar que la investigación del Dr. Sackstein mostró que HCELL se expresa típicamente en las CMHs, pero su expresión se induce en los progenitores mieloides mediante la administración de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) (Dagia NM, Gadhoom SZ, Knoblauch CA, Spencer JA, Zamiri P, Lin CP, Sackstein R. G-CSF Induces E-selectin Ligand Expression on Human Myeloid Cells. *Nature Medicine* 2006; 12:1185-1190). Este trabajo fue el primero en demostrar cómo la inducción de HCELL y otros ligandos de E-selectina por G-CSF, está relacionada con las complicaciones inflamatorias que pueden ocurrir con el uso de esta citoquina.

Para probar formalmente el papel crítico de CD44 (como HCELL) en la dirección de la migración de las CMHs a la médula, el Dr. Sackstein trató de desarrollar reactivos y técnicas para diseñar la glicofoma HCELL de CD44 directamente en la superficie de las células relevantes. Para este fin, creó un nuevo conjunto de glicosiltransferasas diseñadas específicamente, junto con las condiciones de tampón formuladas de manera necesaria para catalizar las sustituciones de monosacáridos específicas del enlace en los glicanos de la superficie celular sin afectar la viabilidad celular o el fenotipo. Esta tecnología de plataforma, llamada "Estereosustitución programada con glicosiltransferasa" (o en inglés "Glicosiltransferase Programmed Stereosubstitution" GPS), es otra de las contribuciones pioneras del Dr. Sackstein a la ciencia médica. Para probar el efecto de la expresión de HCELL en el tráfico celular, el Dr. Sackstein utilizó células madre mesenquimales (CMMs), un tipo de célula que generalmente no tiene receptores de quimiocinas (que son efectores de la migración celular). En particular, las CMMs carecen de la expresión del receptor de quimiocinas conocido como CXCR4 que reconoce CXCL12 expresado de forma constitutiva en la microvasculatura de la médula ósea, una interacción que se cree que es crítica para dirigir la migración de las CMHs a la médula. En un conjunto de elegantes experimentos, el Dr. Sackstein forzó la expresión de HCELL en las CMMs humanas y, cuando se inyectaron en ratones inmunocomprometidos, estas células se unieron a la médula y, posteriormente, se formó un osteoide humano en el hueso del ratón (Sackstein R, Merzaban JS, Cain DW, Dagia NM, Spencer JA, Lin CP, Wohlgemuth R. Ex Vivo Glycan Engineering of CD44 Programs Human Multipotent Stromal Cell Trafficking to Bone. *Nature Medicine* 2008; 14: 181-187). Estos estudios fueron los primeros en demostrar formalmente la migración forzada de una célula madre a un sitio anatómico predeterminado.

Más allá de sus contribuciones en bioquímica y biología celular, el Dr. Sackstein también ha desarrollado nuevos enfoques técnicos para definir las bases moleculares y la biofísica de la migración transendotelial celular en condiciones de flujo hemodinámico. El paradigma convencional de múltiples etapas de la migración celular (Figura 4) sostiene que la diapedesis de las células desde los compartimientos vasculares a los extravasculares implica una cascada de eventos, iniciada por las interacciones moleculares que intervienen en el frenado o “tethering” y rodamiento o “rolling” de las células de la sangre en la superficie endotelial (Paso 1). Estas interacciones reducen la velocidad celular lo suficiente como para permitir que las células detecten (típicamente a través de receptores acoplados a proteína G), las señales emitidas predominantemente por las quimiocinas (Paso 2), que son glicoproteínas quimiotácticas de peso molecular pequeño (8-10 kDa) expresadas en el nicho vascular

Fig 4. Pasos moleculares de la migración celular



© Elsevier 2005

vascular local y en el parénquima tisular. El acoplamiento de los receptores de quimiocinas en la superficie de las células de la sangre, da como resultado una sobreexpresión de las integrinas, con la consiguiente adherencia firme a sus ligandos en el endotelio (Paso 3), seguida de la transmigración endotelial (Paso 4). Aunque convencionalmente considerado en un solo paso (Paso 2), hay evidencias emergentes de que los efectos de las quimiocinas en situaciones fisiológicamente relevantes son una suma de múltiples pasos de señalización dictados por la distribución espacial de las quimiocinas pertinentes. En realidad, los efectos de las quimiocinas en las células humanas no están bien caracterizados, porque las herramientas disponibles para su estudio (cámaras de Boyden), son estáticas, poco fisiológicas y tienen grandes limitaciones. Para superar estas limitaciones el Dr. Sackstein creó una nueva cámara de migración transendotelial para imitar las condicio-





nes del flujo sanguíneo utilizando células humanas relevantes, usando este aparato (Schreiber TS, Shinder V, Cain D, Alon R, Sackstein R. Shear flow-dependent Integration of Apical and Subendothelial Chemokines in T Cell Transmigration: Implications for Locomotion and the "Multi-step Paradigm". *Blood* 2007; 109:1383-88), y que, dependiendo de la cinética de presentación y la localización de las quimiocinas, las células recientemente transmigradas pueden experimentar TEM reversa y volver a entrar en la corriente de flujo (Lee JY, Buzney C, Poznansky M, Sackstein R. Dynamic alterations in chemokine gradients induce transendothelial shuttling of human T cells under physiologic shear conditions. *J. Leuk. Biol.* 2009. 86(6):1285-1294. DOI: 10.1189/jlb.0309214). Estos últimos estudios han demostrado, por primera vez, que la diapedesis en condiciones de flujo hemodinámico no es un proceso de una sola vía, sino que se invierte, lo que produce un desplazamiento dinámico de las células a través de la barrera endotelial.

El Dr. Sackstein combina la experiencia en química de glicanos y biología celular para investigar aspectos fundamentales del tráfico y migración tisular de las poblaciones de células madre y linfoides, lo que tiene un impacto directo en la comprensión de la inmunorreactividad y el injerto en el alotrasplante, y en muchas otras condiciones fisiológicas y patológicas. Cabe destacar que el Dr. Sackstein se ha convertido en el principal investigador en el campo de la biología de las glicoproteínas de células hematopoyéticas. Además de identificar y dilucidar la función de las glicoproteínas como HCELL, ha creado nuevos agentes químicos (como 4-F-GlcNAc) para prevenir la expresión de modificaciones críticas de glicanos que crean ligandos de selectina en células hematopoyéticas (Dimitroff CJ, Bernacki RJ, Sackstein R. Inhibition of Cutaneous Lymphocyte-Associated Antigen Expression: Implications in Modulating Lymphocyte Migration to Skin. *Blood* 2003; 101:602-610; Dimitroff CJ, Kupper TS, Sackstein R. Prevention of Leukocyte Migration to Inflamed Skin with a Novel Fluorosugar Modifier of Cutaneous Lymphocyte-Associated Antigen. *Journal of Clinical Investigation* 2003; 112:1008-1018). Más recientemente, sus estudios de laboratorio han demostrado que la expresión de los ligandos de selectina en células hematopoyéticas se pueden controlar mediante modificaciones de glicanos post-traduccionales en la superficie celular, a través de la digestión con exoglicosidasa (Gadhoun SZ and Sackstein R. CD15/Lewis x Expression in Human Myeloid Cell Differentiation is Regulated by Sialidase Activity. *Nature Chemical Biology* 2008; 4:751-757). Los mismos mecanismos de interacción selectina-glicoproteína se extienden al proceso de migración y unión de las células tumorales en los sitios de metástasis, a los que también ha contribuido. En particular, el trabajo del Dr. Sackstein ha demostrado que las células de cáncer de colon expresan una forma variante de HCELL que sirve al ligando principal de E-selectina de dichas células (Hanley WD, Burdick MM, Konstantopoulos K and Sackstein R. CD44 on LS174T Colon Carcinoma Cells Possesses E-selectin Ligand Activity. *Cancer Res.* 2005; 65:5812-5817; Burdick MM, Chu

JT, Godar S, Sackstein R. HCELL is the major E- and L-selectin ligand expressed on LS174T colon carcinoma cells. *J. Biol. Chem.* 2006; 281:13899-905), y que las células cancerosas escamosas de cabeza y cuello expresan un nuevo ligando de L-selectina (Resto V, Burdick MM, Dagia NM, McCammon SD, Fennewald SM, Sackstein R. L-selectin-mediated Lymphocyte-Cancer Cell Interactions under Low Fluid Shear Conditions. *J. Biol. Chem.* 2008; 283:15816-15824). Más recientemente, las investigaciones del Dr. Sackstein han demostrado el gran impacto que una migración adecuada puede tener en el efecto beneficioso de la inmunoterapia antitumoral (Sackstein R, Schatton T, Barther SR. T-lymphocyte homing: an underappreciated yet critical hurdle for successful Cancer immunotherapy. *Lab Invest.* 2017; 97(6):669-697; Sackstein R. The First Step in Adoptive Cell Immunotherapeutics: Assuring Cell Delivery via Glycoengineering. *Frontiers Immunology.* 2019 Jan 11;9:3084).

3. Aportaciones en Medicina Clínica

Además de su liderazgo en investigación, el Dr. Sackstein es un excelente internista y hematólogo. Es un médico altamente respetado, competente y atento con los pacientes, que es reconocido por sus colegas a nivel internacional y ha sido distinguido como uno de los mejores médicos ("Best Doctors" en USA). Ha desempeñado un papel destacado en el consorcio hospitalario "Partners Health Care System" (Massachusetts General Hospital / Brigham and Women's Hospital / Dana-Farber Cancer Institute), en la formulación de nuevos enfoques para realizar el TCMH como el trasplante no mieloablativo, y para diagnosticar y tratar graves complicaciones del trasplante como las infecciones oportunistas y la EICH. Entre otras aportaciones, cabe destacar que fue el hematólogo líder del equipo que realizó el primer trasplante combinado de médula ósea y riñón en el Massachusetts General Hospital, que fue el investigador principal de un ensayo que evaluó el uso de una nueva cefalosporina de cuarta generación en el tratamiento de infecciones neutropénicas postrasplante, y que lideró los estudios sobre la EICH para el programa de trasplante de médula ósea del Dana Farber Cancer Institute.

4. Aportaciones a la Docencia

El Dr. Sackstein es un profesor excelente, y un académico muy activo en su actividad docente, tanto en los estudios de pregrado como en el postgrado. Como se señaló anteriormente, recibió el premio George Paff a la excelencia en la enseñanza en la Facultad de Medicina de la Universidad de Miami, y también ha sido reconocido por sus contribuciones a la enseñanza en la Facultad de Medicina de Harvard. Mientras era estudiante en Harvard, ideó y organizó el programa "M.D., Ph.D. Program Student-Faculty Retreat" un curso intensivo entre profesores y alumnos para





facilitar a los estudiantes el conocimiento de los estudios de grado y tesis doctoral, y él ha participado en este evento desde que regresó como profesor a Harvard.

El Dr. Sackstein ha sido profesor encargado de la "Introducción a la Medicina Clínica" en Brigham and Women's Hospital, recibiendo la más alta calificación como docente. Ha sido profesor del curso de Hematología y Ciencias y Tecnología de la Salud (HST) del Massachusetts Institute of Technology (MIT) desde 1999, y ha asumido un papel de liderazgo en la capacitación de una nueva generación de médicos, para la realización de investigación básica con aplicación clínica en medicina, la denominada "Medicina Traslacional". Actualmente es co-director del programa para graduados en ciencias médicas para HST, una iniciativa patrocinada por Howard Hughes para brindar educación formal a estudiantes interesados en la convergencia de la ciencia básica y la medicina clínica. Dirige el curso HST 240 "Tutoría en Medicina Traslacional", y el HST 594 "Seminario de Medicina Traslacional". Es muy apreciado como tutor clínico y ha sido un conferenciante muy popular y frecuente entre estudiantes, residentes y becarios tanto en el MGH como en el BWH, en temas que van desde la gestión clínica de problemas hematológicos a la ciencia básica en hematología, inmunología y biología de células madre. Ha supervisado la investigación de docenas de estudiantes de pregrado, grado y de múltiples becarios postdoctorales, muchos de los cuales se encuentran actualmente como Profesor Asistente y Profesor Asociado en universidades de los EE. UU., Europa y Oriente Medio. El Dr. Sackstein también ha sido miembro de los comités de evaluación de tesis y de selección de los mejores estudiantes de grado de Harvard. En todas estas capacidades, destacó como un modelo positivo para sus colegas y estudiantes, con una energía y entusiasmo insuperables para ayudar a otros a lograr sus objetivos, independientemente de su nivel de capacitación o experiencia.

5. Aportaciones a la sociedad

La generosidad y entrega del Dr. Sackstein a la sociedad que le rodea son otra de las características de su persona.

Como se ha indicado previamente, durante su estancia en Florida el Dr. Sackstein inició el primer programa gratuito de atención médica para personas sin hogar en el estado de Florida, y el Programa Magnet para fomentar las carreras de ciencias de la salud en las escuelas del centro de la ciudad de Miami. Por su trabajo en favor de las personas sin hogar y otras personas desfavorecidas, recibió el "Premio Paz y Unidad" de la archidiócesis de Miami en 1993. Mientras estuvo en Tampa (Florida), trabajó para duplicar el espacio del Museo de Ciencia e Industria, y encabezó la creación de un programa de educación tecnológica con base en el museo. Es un firme defensor del papel de los museos de ciencia para aumentar la educación pública y la

comprensión de las ciencias naturales, las matemáticas, la tecnología y la ingeniería, y actualmente es miembro de la Junta de Supervisores del Museo de Ciencias de Boston, de la Junta Nacional de Directores de Museo de Ciencia e Industria (Tampa), y del Consejo Asesor de Educación del "Discovery Museum" (Acton, MA). El Dr. Sackstein ayudó a organizar la primera feria de ciencias en la historia del sistema de escuelas primarias de Sudbury, Massachussets y fue el evaluador principal durante varios años.

Posteriormente en Harvard, el Dr. Sackstein fue uno de los mayores apoyos a los esfuerzos comunitarios de la Oficina de Desarrollo Docente y Diversidad. Ha impulsado y formado parte del comité consultivo del proyecto éxito ("Success Project"), para promover la educación científica de las minorías, y ha sido tutor de más de una docena de estudiantes pertenecientes a minorías que buscan capacitación en el laboratorio. También fue co-investigador principal en el programa para profesores y alumnos de minorías (K-12, MKITS), financiado por el NIH (instituto de la salud de los EE.UU.), en la Escuela de Medicina de Harvard, y ayudó a crear casos de enseñanza biomédica para el Programa de tutores para la Ciencia. De hecho, en todas las instituciones académicas donde ha trabajado y en todas las comunidades en las que ha residido, su compromiso y su historia de logros para ayudar a los jóvenes y, en particular, a los estudiantes minoritarios y desfavorecidos, a seguir carreras en ciencias y medicina es excepcional. También forma parte de la Asociación de ex_alumnos de la Universidad de Harvard, y fue Presidente del Harvard Club en Concord y miembro de la Junta de Directores (Director Regional del Distrito de MA del Nordeste) de la Asociación de Alumnos de Harvard.

6. Aportaciones a a la ciencia Española y a la Universidad de Murcia

El Prof. Sackstein tiene una gran relación con España, colaborando estrechamente con la Fundación Josep Carreras contra la Leucemia en su comité científico desde 1994, y con el Instituto Josep Carreras de investigación como asesor científico. También colabora como jefe del grupo de asesores científicos externos con la Red de Terapia celular del Instituto de Salud Carlos III.

Su colaboración con la Universidad de Murcia es particularmente intensa y fructífera, por cuanto el Prof. Sackstein ha contribuido a la formación de pre y postgrado de nuestros estudiantes, participando desde hace más de 10 años como co-director del curso de verano de Trasplante y Terapia Celular, y fomentando y financiado la formación de científicos de postgrado murcianos en su laboratorio de Harvard.





El Prof. Sackstein ha contribuido de manera clave en el desarrollo de las relaciones institucionales entre la Universidad de Murcia y la Universidad de Harvard, actuando como introductor y facilitando el trabajo del Vicerrector de Relaciones Institucionales (el finado Prof. Bernardo Cascales), para establecer colaboraciones y convenios entre ambas universidades.

La especial dedicación del Prof. Sackstein a la Universidad de Murcia se ha visto también reflejada en la elección de los laboratorios y departamentos clínicos de la Facultad de Medicina de nuestra Universidad y del Servicio de Hematología y la Unidad de Trasplante y Terapia Celular del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, como pioneros para realizar el primer ensayo clínico en seres humanos con células madre mesenquimales fucosiladas según sus patentes tecnológicas, en pacientes con osteoporosis, actualmente a punto de finalizar. También se han realizado tratamientos en uso compasivo, como pruebas de concepto, con este medicamento celular, tras la aprobación de la Agencia Española del Medicamento, en pacientes con enfermedades incurables en estadio muy avanzado, como la esclerosis múltiple, la enfermedad injerto contra huésped pulmonar, y más recientemente, casos de niños con epidermolísis bullosa. Por otro lado, hemos sido capaces por primera vez, de producir a escala clínica en condiciones GMP CMMs fucosiladas con los máximos criterios de seguridad y excelencia en el producto final manufacturado (Lopez-Lucas MD, Pachón-Peña G, García-Hernandez AM, Parrado A, Sanchez-Salinas D, García-Bernal D, Algueró MDC, Martínez FI, Blanquer M, Cabañas-Perianes V, Molina-Molina M, Asín-Aguilar C, Moraleda JM, Sackstein R. Production via good manufacturing practice of exofucosylated human mesenchymal stromal cells for clinical applications. *Cytotherapy*. 2018 Sep;20(9):1110-1123). En todos estos casos, el Prof. Sackstein no sólo ha aportado su apoyo científico continuado, sino también los enzimas y otros materiales necesarios para su desarrollo, de manera altruista, sacrificando su pecunio personal. En el ámbito de la actividad preclínica, son muchos los proyectos de investigación en los que colaboramos, con diferentes modelos animales de enfermedad, para estudiar si la mejora del tráfico de las CMMs por medio de la fucosilación enzimática, es una poderosa herramienta terapéutica en el ámbito de la medicina regenerativa y la modulación de la inflamación y la inmunidad.

Además de lo mencionado, es indudable que su vinculación a nuestro claustro nos traerá múltiples beneficios. En primer lugar, estrechar todavía más los lazos que nos han unido hasta la fecha y continuar los intercambios de investigación. Por otro lado, a partir de ahora la proyección de su trabajo quedará ligada, aún más si cabe, a nuestra Universidad. Finalmente, cabe destacar que el Profesor Sackstein ha sido nombrado el 1 de Enero de 2019, decano de la Facultad de Medicina y Vicepresidente de los asuntos de salud de la Universidad Internacional de Florida en Miami, aunque se mantiene como profesor emérito y director del programa de gli-

ciencia de la Universidad de Harvard. Todo ello abre nuevas perspectivas de colaboración entre ambas Universidades.

Querido Robert: muchísimas gracias por incorporarte a nuestro Claustro. Rector Magnífico y compañeros del equipo rectoral: gracias por estar hoy aquí, agradecimiento que extiendo al claustro de la facultad de Medicina y a todos los presentes.

Jose María Moraleda Jiménez.
Catedrático de Medicina. Departamento de Medicina Interna
Facultad de Medicina. Universidad de Murcia.
Jefe de Servicio de Hematología y Hemoterapia

7. Bibliografía completa del Dr. Sackstein

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/myncbi/robert.sackstein.1/bibliography/40704202/public/?sort=date&direction=ascending>



Laudatio in honorem
Prof. Dr. D. Robert Sackstein

José María Moraleda

1.Introduction

Illustrious authorities, dear colleagues and friends, it is an honor and a great satisfaction for me as a university doctor and as a person, to make this presentation dedicated to Professor Robert Sackstein, as the new Doctor Honoris Causa of the University of Murcia.

Dr. Sackstein was appointed Assistant Professor of Medicine at Harvard Medical School (HMS) in 1997, and was promoted to Associate Professor in 2003 and full Professor in 2012. As you know, the Investigator Pathway at Harvard Medical School is the most stringent criteria for promotion in all of Harvard University. When Dr Sackstein was appointed as full Professor in Dermatology and Medicine, Dr Thomas S. Kupper director of the Dermatology Department stated that Dr Sackstein exceeded all the metrics of career accomplishment requisite to this notable academic distinction. Also that there was very few persons that can claim the level of investigative accomplishment, together with sustained educational/mentoring commitment, and clinical and civic service, that Dr. Sackstein's career has so abundantly demonstrated.

Although these and other aspects of your scientific career will be analyzed in detail, I would also like to highlight his vision of clinical medicine in close relationship with basic sciences. Probably, Dr Sackstein embodies the best definition of the doctor-scientist, a figure of exceptional value who combines basic science research with clinical care, and focus his research on finding answers to patients' problems, the so-called "translational research". " In this tortuous path we had a common teacher, Professor E. Donnell Thomas, Nobel





Laureate in Medicine in 1990 for his pioneering work in the development of bone marrow transplantation, which was the connecting link of our common philosophy, our collaboration scientific and our friendship.

In Murcia, we performed the first bone marrow transplant, not without difficulties due to lack of resources, in June 1991. Dr. Thomas, with whom I had the honor of training in 1993 and 1994 at the Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle, where I first met Dr Sackstein, came to Murcia in 1995 to inaugurate the first Bone Marrow Transplant Unit, which was built at the University General Hospital thanks to the help of the Spanish Foundation for the Fight against Leukemia led by Drs Domingo Aranda and Dr Antonio López Bermejo of Caravaca (Figures 1 and 2). Dr Sackstein joined us on this trip, which gave us the opportunity to share the concerns of our patients, the research projects and to foster the close scientific and personal relationship that Dr Sackstein has had all these years with the University of Murcia. Since then the scientific collaboration of Dr Sackstein with Murcia has been increasing and we can say, without fear of making mistakes, that his intervention has been fundamental for the establishment of the institutional relationship that currently maintains the University of Murcia

DIARIO 16 LA REGIÓN
Sábado 27 Abril 1996

El cordón umbilical, futuro incierto de los trasplantes

El premio Nobel de Medicina ofreció ayer una conferencia sobre las últimas investigaciones para combatir la leucemia

LOURDES AZNAR
Murcia

El Nobel de Medicina Donald Thomas habló ayer en Murcia sobre el importante desarrollo de las líneas de investigación de las células de los cordones umbilicales para los trasplantes de médula ósea. Donald indicó que la tecnología aplicada contra esta enfermedad con células del cordón umbilical cuenta con "un enorme futuro, pero debe ser explorada durante más tiempo, ya que mientras no haya más experiencia clínica, el uso de estas células para trasplantes de médula ósea no sustituirá al actual sistema, que utiliza células medulares humanas".

Asimismo, indicó la necesidad existente de este tipo de donaciones en todos los países aunque en la actualidad ya existe en Nueva York dos bancos que conservan 20.000 muestras de esas células, y 40 de ellas han sido utilizadas para trasplantes de médula. "Probablemente necesitamos de ambos medios, que no son excluyentes, porque aún habrá pacientes que no tengan donantes, y es una teoría atractiva pensar que quien sea tratado por medio de un cordón umbilical, probablemente tendrá menos reacción contra el donante, pero no sabemos con seguridad si esto ocurrirá así", explicó el



THOMAS El premio Nobel de Medicina fue invitado por la Fundación Española contra la Leucemia.

premio Nobel. Otra ventaja de usar el cordón umbilical deriva de que este habitualmente se tira y, sin embargo, es asequible, ya que nacen muchísimos niños diariamente en el mundo y, obviamente, se trata de una fuente fácil de hacerse con él.

El profesor y científico aclaró que la utilización de los cordones umbilicales

tiene la ventaja de que evita a los donantes tener que ir al quirófano, lo que no es deseable, y el "potencial" inminente de que no sabemos si hay un número suficiente de células en el cordón umbilical como para trasplantarlas a un adulto "que lo necesite. Asimismo indicó que los 40 trasplantes que se han utilizado hasta ahora se han hecho en niños, y usar como

fuente el cordón umbilical puede que no sea suficiente para un trasplante en un adulto, aunque hay potenciales ventajas, hay potenciales inconvenientes y necesitamos más datos antes de utilizarlo de forma estándar.

El premio Nobel fue invitado a Murcia por la Fundación Española para la Lucha contra la Leucemia.

Figure 1: Inauguration of the bone marrow transplant Unit by Dr. E. Donnall Thomas in 1996. Newspaper "Diario 16, La Región"



Figure 2: Dr. E. Donnal Thomas, Dr. Robert Sackstein, Dr. Jose M. Moraleda

with Harvard University. In addition, his generosity and dedication to our Faculty of Medicine has been continued, allowing the training of undergraduate and graduate Murcia students in his laboratory, and co-director of the summer course "Transplant and Cell Therapy: from the Bench to the Bedside "since its first edition 12 years ago. Finally, the scientific collaboration among our groups, and their generous help in sharing knowledge, has allowed Murcia to develop pioneering clinical trials in the world, with the technology that he has patented and with the intervention of multidisciplinary teams of our faculty and teams from the Virgen de la Arrixaca University Clinical Hospital.

Therefore, Robert, in this academic event, the University of Murcia wants to acknowledge your scientific merits and special dedication to this University. Today you are officially incorporated to this academic community, although functionally and emotionally you have already been with us for years. Welcome home, Professor Sackstein.

2. Curriculum Vitae. Scientific and academic impact.

Dr. Sackstein is a Cuban immigrant who attended public elementary, middle and secondary schools in Miami, FL. He obtained his baccalaureate at Harvard College (AB, 1977, *Summa cum Laude*) and subsequently obtained his MD and PhD degrees at Harvard Medical School. His Doctoral Thesis was in the laboratory of Dr. Harvey R. Colten, where he performed seminal investigations on the structure and regulation of expression of the complement genes of the major histocompatibility complex. His graduate work earned him numerous publications in highly regarded journals, including *Cell*. During his years as an





MD, PhD student, he garnered an international reputation in the field of complement: he was a plenary speaker in the International Complement Workshop in Germany (in 1983) and was an invited author in *Immunological Reviews*. Moreover, he received the James Tolbert Shipley prize for best research by a student upon his graduation with dual professional degrees from Harvard Medical School in 1985.

From 1985-89, Dr. Sackstein performed internal medicine training and was Chief Medical Resident at the University of Miami/Jackson Memorial Hospital. During his residency years, he concurrently performed a post-doctoral fellowship in the laboratory of Dr. Yee Hon Chin, in the Department of Microbiology and Immunology at the University of Miami. During that time, Dr. Sackstein cloned the gene encoding L-selectin in the rat and also made the first observations of dermal barrier changes in psoriasis which mediate lymphocyte migration into the skin (Sackstein R, Falanga V, Streilein JW, Chin YH. Lymphocyte adhesion to psoriatic dermal endothelium is mediated by a tissue-specific receptor/ligand interaction. *J. Invest Dermatol.* 1988; 91:423-430). This early contribution to the understanding of adhesion molecules regulating lymph node and dermal trafficking of lymphocytes led him to focus his career on the physiology and pathobiology of adhesion molecules which direct tissue tropisms of both mature leukocytes and hematopoietic stem cells in humans.

In 1989, Dr. Sackstein received a Veterans Affairs Career Development Award and was appointed Assistant Professor of Medicine, Microbiology and Immunology at the University of Miami. In that same year, Dr. Sackstein began training as a hematologist and subsequently became board-certified in Hematology. During his years at the University of Miami, Dr. Sackstein helped start the bone marrow transplant program and founded, and served as Director of, the Lymphoma Cutis Program at the University of Miami Comprehensive Cancer Center. Besides his significant clinical contributions, he received numerous awards and recognitions for his contributions as a teacher and a scientist, and for his community work. Notably, he received the George Paff Award for Teaching Excellence, was the recipient of the coveted Stanley Glaser Award for Research Accomplishment, and was awarded the Peace and Unity Award by the Archdiocese of Miami for his work in starting (and serving as the co-medical director) of a free health care clinic to treat the uninsured in Miami (called the "Camillus Health Concern"). More will be said below on Dr. Sackstein's profound and consistent commitment to community service, but it should be noted that his colleague in the founding the Camillus Health Concern

(Dr. Joe Greer) was awarded the 2009 Presidential Medal of Freedom by President Barack Obama for his work in this clinic.

In 1993, Dr. Sackstein was recruited to be the Director of the Jenkins Foundation Transplant Immunology Research Labs at the Moffitt Cancer Center of the University of South Florida College of Medicine. There he served as an Assistant Professor of Medicine, Pathology and Laboratory Medicine, and was the scientific director of the bone marrow transplant team from 1993 through 1997. During that time, Dr. Sackstein's efforts as a clinician and a basic scientist became intimately intermeshed, with the single goal of improving outcomes for patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation (HSCT): Dr. Sackstein focussed his research efforts on the molecular basis of the steroid effect(s) in redirecting lymphocyte trafficking, on the adhesion molecules which regulate lymphocyte migration to target tissues in acute graft-versus-host disease (GVHD), and on the role of L-selectin in hematopoiesis. Based on clinical observations and laboratory studies of human hematopoietic stem cells (HSCs) and lymphocytes, he made seminal observations on the adhesion molecules that direct stem cell trafficking to bone marrow and lymphocyte trafficking after HSCT, and of the role of adhesion molecules in mediating post-HSCT complications such as GVHD and thrombotic thrombocytopenia purpura (TTP). His observations opened up exciting new approaches for enhancing hematopoiesis after HSCT and for treatment of both GVHD and TTP, yielding international recognition, including receipt of the Young Investigator Award of the International Society of Experimental Hematology. But even in light of the importance of these contributions, his highest level of achievement, in terms of scientific originality and impact, has been in the biochemistry and structural biology of selectin ligands.

Dr. Sackstein's research efforts have been responsible for an extensive body of published literature in his field, which has impacted significantly on our understanding of the structural biology of selectins and their ligands, on the physiology and pathobiology of lymphocyte migration, and on the molecular basis of hematopoietic stem cell homing and proliferation/differentiation.

Stemming from his observations of graft failure after HSCT in the 1980s, Dr. Sackstein began studies to define how adhesion molecules regulate hematopoiesis. In early investigations while a faculty member at the University of Miami, Dr. Sackstein recognized that L-selectin, a molecule best known as the "lymph node homing receptor", was also characteristically expressed on human HSCs. These observations led him to hypothesize that L-selectin ligand(s)





would also be expressed on HSCs, and he sought to investigate the presence and structure of such ligand(s). In fact, though not appreciated at the time, it is now known that L-selectin expression on human HSCs is associated with higher clonogenic activity and faster hematopoietic recovery following HSCT.

The selectins are a family of three C-type lectins (L-selectin expressed on leukocytes, and E- and P-selectin which are expressed on endothelial cells and, for P-selectin, also on platelets) that bind to sialofucosylated carbohydrate structures, the prototype of which is a tetrasaccharide called sialylated Lewis X (Figure 3). In the early 1990s, Dr. Sackstein made the first observation that human HSCs displayed an L-selectin ligand, and, of equal import, that this molecule was a glycoprotein structurally unlike any other L-selectin ligand previously described (Oxley SM, Sackstein R. Detection of an L-selectin ligand on a hematopoietic progenitor cell line. *Blood* 1994; 84:3299-3306; Sackstein R, Fu L, Allen KL. A hematopoietic cell L-selectin ligand exhibits sulfate-independent binding activity. *Blood* 1997; 89:2773-2781; Sackstein R, Dimitroff CJ. An hematopoietic cell L-selectin ligand that is distinct from PSGL-1 and displays N-glycan-dependent binding activity. *Blood* 2000; 96:2765-2774). Owing to the fact that at the time of

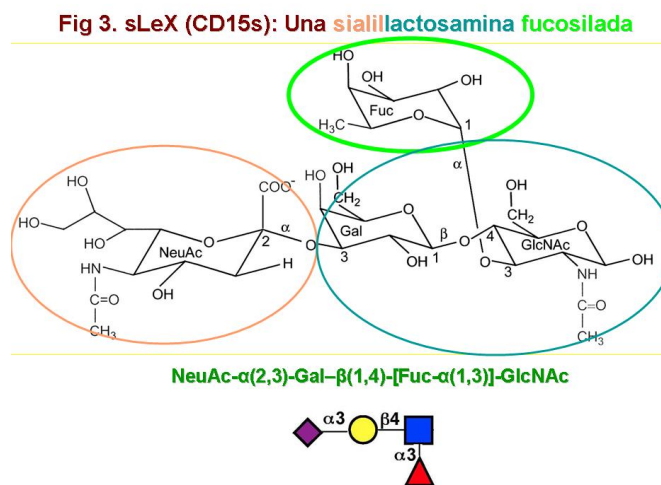


Figure 3: Selectins. Sialil Lewis X (sLeX)

his discovery L-selectin ligands had only been described on endothelial cells, Dr. Sackstein's findings were met with initial skepticism. A great deal of skepticism was also engendered by the unique structural features of this "putative ligand": the glycan binding determinants of the L-selectin ligand expressed by HSC did not fall within the existing paradigm. His persistence and meticulous biochemical studies defined the novel structural biology of this L-selectin ligand and he succeeded in identifying this structure after eight years of labor-intensive effort (Dimitroff CJ, Lee J, Fuhlbrigge RC, Sackstein R. A distinct gly-

coform of CD44 is an L selectin ligand on human hematopoietic progenitor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000; 97:13841-13846; Dimitroff CJ, Lee JY, Rafii S, Fuhlbrigge RC, Sackstein R. CD44 is a Major E-selectin Ligand on Human Hematopoietic Progenitor Cells. *J. Cell Biology* 2001; 153:1277-1286). In order to identify this molecule, Dr. Sackstein created novel technology known as the “blot rolling assay”. I will describe here briefly the history of the blot rolling assay to provide proper context to this profoundly innovative contribution to adhesion molecule research.

In general, selectins (and L-selectin especially) require a threshold hemodynamic shear in order to engage their cognate ligands. Accordingly, static assays such as ligand blots failed to identify the L-selectin ligand detected by Dr. Sackstein on human HSC, and this structure also could not be isolated using conventional immunoaffinity techniques. Despite clear functional evidence of its existence in shear-based assays, years of arduous biochemical studies (and multiple attempts at raising antibodies) failed to reveal its identity. While performing biochemical studies to characterize the carbohydrate structure of the ligand, Dr. Sackstein made the observation that ligand activity within preparations of membranes of HSCs was preserved despite boiling to 100°C, suspending membranes in 10% SDS and reducing membrane proteins in 5% β -mercaptoethanol. Dr. Sackstein then made a critical conceptual leap: because of the observed preservation of L-selectin ligand functional activity despite protein denaturation, he postulated that the function of ligand would be preserved under standard SDS-PAGE conditions, and during subsequent transfer of the electrophoretically-resolved membrane proteins to blotting membranes. This concept was first tested using western blots of human HSC membrane proteins under conventional L-selectin assay conditions (Stamper-Woodruff assay), and the results showed that ligand activity was indeed intact. To further identify the L-selectin ligand activity within resolved membrane protein bands immobilized on blots, Dr. Sackstein teamed with Dr. R. Fuhlbrigge to adapt the standard parallel plate flow chamber apparatus to accommodate blotting membranes. This modification thus allowed for direct, real-time observation of adhesive interactions between cells in shear flow and proteins immobilized on blotting membranes, and Dr. Sackstein named the method “The Blot Rolling Assay”. This powerful technique has subsequently led to identification of several previously unknown selectin ligands on leukocytes and cancer cells. The major advantage of this method is that allows for the rapid and reproducible assessment of selectin ligand activity among both known and unknown adhesion molecules within a complex mixture under appropriate functional shear stress without the need for prior isolation or enrichment of the constituent parts





beyond the electrophoretic step. The blotting membrane is rendered semi-transparent by pre-incubation in glycerol-containing buffers, and cells or particles (e.g., microbeads) bearing adhesion molecules of interest are introduced under controlled physiological flow conditions and observed by video microscopy for interaction with the immobilized ligands. Tethering and rolling interactions are observed directly on the pertinent band(s). The band(s) supporting such adhesive interactions can then be excised and subjected to mass spectrometry or protein sequencing for identification. This technique, now a landmark tool exploited by other investigative groups, was developed and pioneered specifically by Dr. Sackstein to identify the novel selectin ligand expressed on human HSCs.

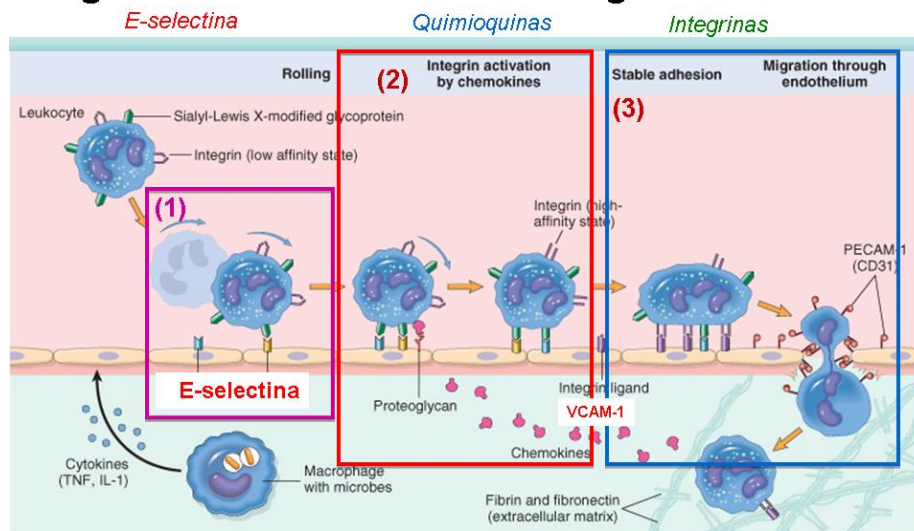
The molecule that Dr. Sackstein discovered, now known as “Hematopoietic Cell E-/L-selectin Ligand” (HCELL), is not a “new” protein, but rather a novel glycoform of a well-recognized integral membrane protein, CD44. CD44 is best known for being the major receptor for hyaluronic acid, but Dr. Sackstein’s work showed that the CD44 glycoform of human HSCs (HCELL) is specialized to function as a highly potent ligand for both E-selectin and L-selectin. HCELL is only expressed on the earliest human hematopoietic progenitor cells, and is the most potent E- and L-selectin ligand naturally-expressed on any human cell. E-selectin is typically an inducible endothelial protein, but, notably, it is constitutively expressed on the microvasculature of the bone marrow where it is thought to play an important role in mediating stem cell migration into bone marrow. Dr. Sackstein’s discoveries thus implicated a role for CD44 as a “bone marrow homing receptor”, and provided a new understanding of the biology of CD44 in hematopoietic events. Importantly, Dr. Sackstein’s research showed that HCELL is typically expressed on HSCs, but its expression is induced on myeloid progenitors by administration of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) (Dagia NM, Gadhoum SZ, Knoblauch CA, Spencer JA, Zamiri P, Lin CP, Sackstein R. G-CSF Induces E-selectin Ligand Expression on Human Myeloid Cells. *Nature Medicine* 2006; 12:1185-1190). This report was the first to show how induction of HCELL and other E-selectin ligands by G-CSF is linked to inflammatory complications that can occur with use of this cytokine.

To formally test the critical role of CD44 (as HCELL) in directing stem cell migration to marrow, Dr. Sackstein sought to develop reagents and techniques to glycan engineer the HCELL glycoform of CD44 directly on the surface of relevant cells. To this end, he spearheaded creation of a new set of glycosyltransferases specifically designed, together with requisitely formulated buffer conditions, to catalyze linkage-specific monosaccharide substitutions on cell surface glycans without affecting cell viability or phenotype. This platform technology, called

“Glycosyltransferase-Programmed Stereosubstitution”, is another one of Dr. Sackstein’s pioneering contributions to medical science. To test the effect of enforced HCELL expression on cell trafficking, Dr. Sackstein utilized mesenchymal stem cells (MSCs), a cell type known to be generally devoid of chemokine receptors, which are effectors of cell migration (and will be described in further detail below). In particular, MSCs characteristically lack expression of the chemokine receptor known as CXCR4 which recognizes constitutively expressed CXCL12 on marrow microvasculature, an interaction which is thought to be critical for driving HSC migration to marrow. In a set of elegant experiments, Dr. Sackstein enforced HCELL expression on human MSCs, and, when injected into immunocompromised mice, these cells homed to marrow and subsequently made human osteoid in the mouse bone (Sackstein R, Merzaban JS, Cain DW, Dagia NM, Spencer JA, Lin CP, Wohlgemuth R. Ex Vivo Glycan Engineering of CD44 Programs Human Multipotent Stromal Cell Trafficking to Bone. *Nature Medicine* 2008; 14:181-187). These studies are the first to formally demonstrate the enforced migration of a stem cell to a predetermined anatomic site.

Beyond his seminal contributions in biochemistry and cell biology, Dr. Sackstein has also developed novel technical approaches to define the molecular basis and biophysics of cellular transendothelial migration under hemodynamic flow conditions. The conventional multistep paradigm of cellular migration (Figure 4) holds that diapedesis of cells from vascular to extravascular compartments involves a cascade of events, initiated by tethering and rolling interactions of blood-borne cells on the endothelial surface (Step 1). These interactions slow

Fig 4. Pasos moleculares de la migración celular





cellular velocities sufficiently to allow the cells to sense (typically via G-protein coupled receptors) chemical signals delivered predominantly by chemokines (Step 2), which are small molecular weight (8-10 kDa) chemotactic glycoproteins expressed within the local vascular milieu (and tissue parenchyma). The engagement of chemokine receptors on the surface of blood-borne cells results in G-protein-coupled upregulation of integrin adhesiveness with ensuing firm adherence (Step 3), followed by endothelial transmigration (Step 4). Although conventionally envisioned in one step (Step 2), there is emerging evidence that the effects of chemokines in physiologically-relevant situations are a summation of multiple signaling steps dictated by the spatial distribution of the pertinent chemokines. In reality, the effects of chemokines on human cells are largely uncharacterized because the tools available to study human chemokine activity have significant limitations. Thus, Dr. Sackstein recognized that current experimental *in vivo* models provided only limited information on the role of chemokines in regulating trafficking of human cells. To address all of these issues, he created a new transendothelial migration chamber to mimic blood flow conditions using relevant human cells using this apparatus. (Schreiber TS, Shinder V, Cain D, Alon R, Sackstein R. Shear flow-dependent Integration of Apical and Subendothelial Chemokines in T Cell Transmigration: Implications for Locomotion and the "Multi-step Paradigm". *Blood* 2007; 109:1383-88), and that, depending on the kinetics of presentation and the location of displayed chemokines, the recently transmigrated cells can undergo reverse TEM and re-enter the flow stream (Lee JY, Buzney C, Poznansky M, Sackstein R. Dynamic alterations in chemokine gradients induce transendothelial shuttling of human T cells under physiologic shear conditions. *J. Leuk. Biol.* 2009. Published on-line October 1, 2009. DOI: 10.1189/jlb.0309214). These latter studies have thus shown, for the first time, that diapedesis under hemodynamic flow conditions is not a one-way process, but be reversed, yielding a dynamic shuttling of cells across the endothelial barrier.

Dr. Sackstein combines the expertise in glycan chemistry and cellular biology to investigate fundamental aspects of tissue-specific homing and lodgment of lymphoid and stem cell populations, with a direct impact on understanding immunoreactivity and engraftment in allo-transplantation. Notably, Dr. Sackstein has become the leading investigator in the field of hematopoietic cell glycoprotein biology. Besides identifying and elucidating the function of glycoproteins such as HCELL, he has created novel chemical agents (such as 4-F-GlcNAc) to prevent expression of critical glycan modifications that create selectin ligand(s) on hematopoietic cells (Dimitroff CJ, Bernacki RJ, Sackstein R. Inhibition of Cuta-

neous Lymphocyte-Associated Antigen Expression: Implications in Modulating Lymphocyte Migration to Skin. *Blood* 2003; 101:602-610; Dimitroff CJ, Kupper TS, Sackstein R. Prevention of Leukocyte Migration to Inflamed Skin with a Novel Fluorosugar Modifier of Cutaneous Lymphocyte-Associated Antigen. *Journal of Clinical Investigation* 2003; 112:1008-1018). Most recently, his laboratory studies have shown that expression of selectin ligand(s) on hematopoietic cells can be controlled by post-translational glycan modifications on the cell surface, via exoglycosidase digestion (Gadhoun SZ and Sackstein R. CD15/Lewis x Expression in Human Myeloid Cell Differentiation is Regulated by Sialidase Activity. *Nature Chemical Biology* 2008; 4:751-757). The same mechanisms of selectin-glycoprotein interaction extend to the process of tumor cell migration and attachment at sites of metastasis, for which he has also contributed. In particular, Dr. Sackstein's work has shown that colon cancer cells express a variant form of HCELL that serves the principal E-selectin ligand of such cells (Hanley WD, Burdick MM, Konstantopoulos K and Sackstein R. CD44 on LS174T Colon Carcinoma Cells Possesses E-selectin Ligand Activity. *Cancer Res.* 2005; 65:5812-5817; Burdick MM, Chu JT, Godar S, Sackstein R. HCELL is the major E- and L-selectin ligand expressed on LS174T colon carcinoma cells. *J. Biol. Chem.* 2006; 281:13899-905), and that head and neck squamous cancer cells express a novel L-selectin ligand (Resto V, Burdick MM, Dagia NM, McCammon SD, Fennewald SM, Sackstein R. L-selectin-mediated Lymphocyte-Cancer Cell Interactions under Low Fluid Shear Conditions. *J. Biol. Chem.* 2008; 283:15816-15824). More recently, Dr Sackstein's research has shown the great impact that adequate migration can have on the beneficial effect of antitumor immunotherapy (Sackstein R, Schatton T, Barther SR. T-lymphocyte homing: an underappreciated yet critical hurdle for successful cancer immunotherapy *Lab Invest.* 2017; 97 (6): 669-697; Sackstein R. The First Step in Adoptive Cell Immunotherapeutics: Assuring Cell Delivery via Glycoengineering, *Frontiers Immunology* 2019 Jan 11; 9: 3084).

3. Contributions in Clinical Medicine

Apart from his leadership in his field of research, Dr. Sackstein is an accomplished board certified internist and hematologist. He is a highly respected, competent, extremely thoughtful and caring physician, who is nationally recognized by peers (e.g., distinguished by "Best Doctors"). He has played a leading role within the Partners HealthCare System (Massachusetts General Hospital/Brigham and Women's Hospital/ Dana-Farber Cancer Institute) in formulating novel approaches to perform HSCT (in particular, non-myeloablative transplant), and to diagnose and treat complications of HSCT, in particular, oppor-





tunistic infections and GVHD. He was the bone marrow transplant physician of record within the team that performed the first combined bone marrow-kidney transplant (at MGH), he served as the Principal Investigator in an investigator-initiated trial assessing the use of a new fourth generation cephalosporin in the treatment of neutropenic infections following HSCT, and he played a pivotal leadership role in organizing a Program Project on GVHD for the Bone Marrow Transplant Program of the Dana Farber Cancer Institute.

4. Teaching Contributions

Dr. Sackstein is an outstanding teacher and colleague, and an active academician in both the medical and graduate school curricula. As noted above, he received the coveted George Paff Award for Excellence in Teaching at the University of Miami School of Medicine, and has been recognized for his teaching contributions at Harvard Medical School. While a graduate student at Harvard, he devised and organized the inaugural M.D.,Ph.D. Program Student-Faculty Retreat, and he has been a participant in this event since returning to his alma mater as a faculty member. He has also served as a Preceptor in Introduction to Clinical Medicine at Brigham and Women's Hospital, and has received the highest rating for teaching in this course. He has been a lecturer in the Health Sciences and Technology (HST) Hematology course since 1999, and his presentations have been lauded for their exceptional clarity and comprehensiveness. He has taken a leadership role in the training of the next generation of "translationalists", and he currently serves as Co-Director of the Graduate Education in Medical Sciences program for HST, a Howard Hughes-sponsored initiative to provide formal graduate education at the convergence of basic science and clinical medicine. He directs two courses for the GEMS program: HST 240 "Translational Medicine Preceptorship", and HST 594 "Translational Medicine Seminar"). He is highly regarded as a clinical educator by the students, residents and fellows he has supervised on the wards, and he has been a very popular and frequent lecturer to residents and fellows at both the MGH and BWH, on issues ranging from clinical management of hematologic problems to basic science hematology, immunology and stem cell biology. He has overseen the research of dozens of high school and college students, two graduate students and multiple post-doctoral fellows, many of which are now at the rank of Assistant Professor and Associate Professor at universities throughout the USA, Europe and the Middle East. I have personally heard him speak at professional meetings and he expresses difficult formulations with a remarkable clarity of thought, with equal facility and impact regardless of whether he is speaking to

students or to colleagues. Dr. Sackstein has also served on the Thesis Committees of Harvard GSAS doctoral degree and Harvard medical student honors degree candidates. In all these capacities, he serves as a positive role model for his colleagues, students and post-doctoral clinical and research trainees, with unsurpassed energy and enthusiasm for assisting others in achieving their goals, regardless of their level of training or expertise.

5. Community Service

Few faculty members can match Dr. Sackstein in the breadth and richness of non-institutional service and accomplishments. Prior to coming to Harvard Medical School, Dr. Sackstein started the first free homeless health care program in the state of Florida and was instrumental in starting the Magnet Program for Health Care Careers in the inner-city schools of Miami, FL. For his work on behalf of the homeless and other underprivileged persons, he received the “Peace and Unity Award” by the Archdiocese of Miami in 1993. While in Tampa, he worked to double the floor space of the Museum of Science and Industry, and spearheaded creation of museum-based technology education. He is a strong advocate for the role of science museums in increasing public awareness and understanding of natural sciences, mathematics, technology and engineering, and currently serves on the Board of Overseers of the Boston Museum of Science, on the National Board of Directors of the Museum of Science and Industry (Tampa, FL), and on the Education Advisory Board of the Discovery Museum (Acton, MA). Dr. Sackstein helped organize the first science fair in the history of the Sudbury Elementary School System (Massachusetts), and served as its lead judge for several years.

At Harvard, he has been a major contributor to the community-wide efforts of the Office of Faculty Development and Diversity. He has served on the Project Success Advisory Committee (a program to promote lab-based science education of underrepresented minorities) and has been a preceptor for over a dozen minority students seeking laboratory training. He was also Co-Principal Investigator in the NIH-sponsored Minority K-12 Initiative for Teachers and Students (MKITS) program at Harvard Medical School, and helped create biomedical teaching cases for the Mentoring for Science Program. In fact, in all academic institutions where he has worked and in all communities in which he has resided, his commitment to and history of accomplishment in helping young people, and, in particular, minority and disadvantaged students, pursue careers in science and medicine is exceptional. He is also a loyal alumnus of





Harvard University, and was the Chairperson of his Harvard Medical School 25th Class Reunion (Class of 1981), served on the Reunion Committees of his 20th, 25th and 30th Class Reunions for Harvard College (Class of 1973), was an honorary class Marshall at Harvard University Commencement in 2002 and 2007, and served as President of the Harvard Club in Concord and on the Board of Directors (Regional Director of the Northeast MA District) of the Harvard Alumni Association.

6. Contributions to Spanish science and the University of Murcia

Prof. Sackstein has a great relationship with Spain, collaborating closely with the Josep Carreras Foundation against Leukemia in its scientific committee since 1994, and with the Josep Carreras Institute of research as a scientific advisor. He also collaborates as head of the group of external scientific advisors with the Cell Therapy Network of the Carlos III Health Institute.

His collaboration with the University of Murcia is particularly intense and fruitful, since Prof. Sackstein has contributed to the pre and postgraduate training of our students, participating for more than 10 years as co-director of the Transplant summer course and Cell Therapy, and fostering and financing the training of Murcian postgraduate scientists in their Harvard laboratory.

Prof. Sackstein has contributed in a key way in the development of institutional relations between the University of Murcia and Harvard University, acting as an introducer and facilitating the work of the Vice Rector of Institutional Relations (the late Prof. Bernardo Cascales), to establish collaborations and agreements between both universities.

The special dedication of Prof. Sackstein to the University of Murcia has also been reflected in the choice of laboratories and clinical departments of the Faculty of Medicine of our University and the Hematology Service and the Bone Marrow Transplant and Cell therapy of the University Clinical Hospital Virgen de la Arrixaca, as pioneers to carry out the first clinical trial in humans with fucosylated MSCs according to his technological patents, in patients with osteoporosis, currently about to end. Treatments in compassionate use, as proof of concept, have also been carried out with this cellular medicine, after the approval of the Spanish Agency for Medicines, in patients with incurable diseases at a very advanced stage, such as multiple sclerosis, pulmonary graft versus host disease, and more recently, cases of children with epidermolysis bullosa. On the other hand, we have been able for the first time to produce, on a clinical

scale, in GMP conditions, fucosylated MSCs with the highest safety and excellence criteria in the final manufactured product (Lopez-Lucas MD, Pachón-Peña G, García-Hernandez AM, Parrado A, Sanchez-Salinas D, García-Bernal D, Alghero MDC, Martinez Fl, Blanquer M, Cabañas-Perianes V, Molina-Molina M, Asín-Aguilar C, Moraleda JM, Sackstein R. Production via good manufacturing practice of exofucosylated human mesenchymal stromal cells for clinical applications *Cytotherapy* 2018 Sep; 20 (9): 1110-1123). In all these cases, Prof. Sackstein has not only provided his continued scientific support, but also the enzymes and other materials necessary for his development, altruistically, sacrificing his personal money. In the field of preclinical activity, there are many research projects in which we collaborate, with different animal models of disease, to study if the improvement of the traffic of the MSCs through enzymatic fucosylation, is a powerful therapeutic tool in the field of regenerative medicine and the modulation of inflammation and immunity.

In addition to the aforementioned, there is no doubt that your connection to our faculty will bring us multiple benefits. In the first place, we must further strengthen the ties that have united us to date and continue the research exchanges. On the other hand, from now on the projection of your work will be linked, even more if possible, to our University. Finally, it should be noted that Professor Sackstein has been appointed on January 1, 2019, as Dean of the Faculty of Medicine and Vice President of Health Affairs of the International University of Florida in Miami, although he remains as professor emeritus and director of the program of glycoscience at Harvard University. All this opens new perspectives of collaboration between both Universities.

Dear Robert, thank you very much for joining our University. Rector magnificent and colleagues of the rectoral team: thank you for being here today, thanks that I extend to the faculty of Medicine and to all those present.

Jose María Moraleda Jiménez.
Professor of Medicine. Internal Medicine Dpt. Faculty of Medicine, University of Murcia. Head Hematology Dpt & BMT and Cell therapy Unit. University Hospital Virgen de la Arrixaca.

7. Bibliography Dr Sackstein

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/myncbi/robert.sackstein.1/bibliography/40704202/public/?sort=date&direction=ascending>



Robert Sackstein

Palabras pronunciadas por el profesor
Dr. D. Robert Sackstein
con motivo de su investidura como
Doctor Honoris Causa por la
Universidad de Murcia

*Honourable Rector Magnificus,
Members of the University Community,
Ladies and Gentlemen.*

I am extremely honored to receive a doctorate, *honoris causa*, from the University of Murcia. In the next few paragraphs, I aim to convey in very personal words and non-technical terms how a research effort to discover how cells in blood flow migrate to bone marrow has evolved into the creation of a platform technology to enable all cell-based therapeutics.

I was fortunate to have been raised within the intersection of two great cultural traditions. I was born in Cuba to a Cuban mother of Spanish ancestry and an American father of Eastern European ancestry. My “apellido” reflects the convergence of these traditions: Sackstein-Guerrero. Had I continued to live in Cuba (or in any other Spanish-language country), I would have carried this name for the rest of my life. However, soon after the start of the Castro regime, my family and I immigrated to the USA. I was just 4 years old, and my father worried that it would be too difficult for Americans to pronounce my last name. As such, he dropped the “Guerrero” on all of my US citizenship papers, but the spirit of my Spanish heritage was fixed in my soul at birth and has stayed ever since.

Literally translated, the word “guerrero” means “warrior.” Upon entering medical school in 1977, I earnestly wished to live up to my name by becoming a warrior - as a practicing medical doctor - passionately and compassionately engaged in the battle against life-threatening disease(s). But, soon after starting medical school, I quickly recognized that medical doctors were at a great disadvantage in battling disease because there were huge gaps in our understanding of human biology and, also, in our understanding of medical treatments. For example, steroids were the mainstay of therapy for many immune diseases (and still are, to this day), but it was clear to me that we had significant gaps in our unders-





tanding of how they work (and still do to this day!). I also began realizing that in situations where patients faced certain death, doctors had to perform daring medical treatments/procedures in attempt to save the person's life. Stunningly, rather than achieve the intended beneficial effect(s), *the medical therapy often hastened the death of the patient*. In particular, in my second year of medical school, I had the opportunity to bear witness to the early stages in the evolution of the treatment known as "bone marrow transplantation," now more commonly called "hematopoietic stem cell transplantation" (HSCT). In this procedure, blood-forming stem cells ("hematopoietic stem/progenitor cells" (HSPCs)) are collected from a donor and then injected into the bloodstream of a recipient. The HSPCs then travel within the blood into the marrow of the recipient and began to produce new blood cells. In those early years, I witnessed first-hand that as many as 25% of patients undergoing HSCT died within a few weeks of the procedure because they never recovered blood cell production. This problem, called "lack of engraftment," both puzzled and shocked me: How could medical doctors accept the fact that a "therapeutic" procedure intended to save the patient's life frequently *caused death faster than that of the underlying disease itself*?

From seminal animal studies in the 1950s, in large part undertaken in the laboratory of Dr. E. Donnall Thomas (at that time, within the Mary Imogene Bassett Hospital in Cooperstown, NY), it was known that the injection of cells collected from marrow of the donor directly into the recipient marrow was less efficient in creating new blood cells than by injecting the collected marrow cells into the bloodstream. These observations indicated that HSPCs had the innate ability to migrate from the bloodstream specifically into the marrow (a process called "homing"). I therefore hypothesized that the lack of engraftment might be because HSPCs, as collected from certain donors, might not express a "bone marrow homing receptor" that would guide their entry from bloodstream into marrow. Thus began my professional journey into understanding the molecular basis of cell migration, especially cell migration to the marrow.

To improve outcomes for patients undergoing HSCT, I obtained a PhD (in Immunology) together with my MD degree, and I underwent clinical training in internal medicine and hematology, with specialized training within the area of HSCT. During this era (the 1980s), significantly more information became available about the biology of the human HSPCs, in large part owing to the discovery by Dr. Curt Civin and colleagues at Johns Hopkins University (Baltimore, MD) that a cell surface protein called "CD34" was present on human HSPCs. This finding allowed for the creation of antibodies to CD34 that enabled isolation of these cells, thereby providing opportunities to study their cell surface biochemistry.

Additionally, the availability of the CD34 marker allowed for quantification of the number of HSPCs (that number being ~2 million/kg of recipient body weight) required to ensure engraftment within a collection of marrow, or of HSPCs gathered from the blood (via a process called “mobilization”). However, subsequent studies showed that only a small fraction (~3%) of administered HSPCs actually enter the marrow. This finding was striking, clearly indicating that there was a deficit in homing of the HSPCs to marrow. However, at that time (the late 1980s), the worries about lack of engraftment had disappeared because we could simply collect the requisite number of donor HSPCs in order to achieve engraftment in the recipient. Accordingly, given that engraftment issues were resolved, I was initially unable to obtain the needed grant support to study the homing of HSPCs to marrow. I sought out the advice of Dr. Thomas, and he encouraged me to pursue the needed mechanistic and biochemical studies to identify this “bone marrow homing receptor.” His friendship and mentorship were priceless in giving me the confidence to proceed in my research efforts. When Dr. Thomas was recognized with the 1990 Nobel Prize in Medicine for his seminal work in developing HSCT (as stated in the Nobel wording, for pioneering “cell transplantation in the treatment of human disease”), I called to congratulate him. Rather than commenting on the award, he was (as usual) extremely humble and gracious, and he encouraged me not to give up on my biochemical studies, stating that *“the future is now in your hands.”*

In the late 1980s, apart from the exciting opportunities to study the biology of human HSPCs, there was a flurry of intriguing studies describing a novel class of molecules called “selectins.” The selectins comprise a family of three molecules, L-selectin (also called CD62L), E-selectin (also called CD62E), and P-selectin (also called CD62P). At their initial discovery, it was found that L-selectin is expressed on white blood cells (also known as “leukocytes”; hence, “L”), E-selectin is expressed on cells that comprise the inner lining of blood vessels (known as “endothelial cells”, hence, “E”) and P-selectin is displayed on platelets (hence, “P”). These molecules all function as “lectins,” i.e., by definition, *lectins are proteins that bind sugars*. In each case, *the selectins bind to a sugar structure known as “sialylated Lewis X” (abbreviated “sLeX”).*

There was abundant experimental evidence dating back to the early 1960s that lymphocytes express a “lymph node homing receptor” that guides migration of these cells from blood to lymph nodes. This trafficking pattern is programmed by the binding of lymphocytes to the endothelial cells within specialized blood vessels of lymph nodes called “high endothelial venules” (HEV). Because this lymph node homing receptor displayed functional characteristics





that mirrored that of the bone marrow homing receptor that I was trying to identify on human HSPCs, I set out to identify the lymph node homing receptor in order to understand how it functioned. Working with Dr. Yee Hon Chin at the University of Miami (Miami, FL), we deduced the structure of this molecule at the same time that four other groups were making similar observations. In each case, the data revealed that the lymph node homing receptor was L-selectin. I thus wondered if L-selectin might play a role in homing to marrow, so I investigated whether human HSPCs express L-selectin.

Using a variety of experimental approaches, my lab obtained strong evidence that L-selectin is indeed expressed on human HSPCs. While we were engaged in studies to define the biochemistry of L-selectin expressed on HSPCs, a team of investigators headed by Dr. Laurence A. Lasky at Genentech (San Francisco, CA) reported that HEV express the CD34 molecule and that this CD34 molecule binds to L-selectin (i.e., it is a “ligand” for L-selectin). I thus studied whether the CD34 molecule of human HSPCs could bind L-selectin. To this end, I capitalized on the availability of the human cell line known as “KG1a” – a primitive hematopoietic cell line with cell membrane biochemical properties similar to that of native human HSPCs. Indeed, the first observations that CD34 served as a marker of human HSPCs were made using this cell line.

I observed that neither CD34 isolated from KG1a cells nor from native human HSPCs had the ability to bind L-selectin, but, to my absolute amazement, I found that human HSPCs and KG1a cells express a molecule that serves as a highly potent L-selectin ligand. In fact, I observed that this L-selectin ligand was much more potent in binding to L-selectin than any L-selectin ligand expressed on lymph node HEV. This finding was especially surprising in that L-selectin ligands had been previously identified only on endothelial cells. These findings were published in 1994 in a report in the journal *Blood* (“Detection of an L-selectin Ligand on a Hematopoietic Cell Line” *Blood*.1994;84:3299-3306). I share here the last paragraph of that report:

“L-selectin ligands have been recognized heretofore only on endothelial cells. The detection of an L-selectin ligand on a nonendothelial cell expands the physiologic implications of L-selectin function beyond its well-characterized role in regulating leukocyte trafficking. Future studies will be directed at molecular characterization of the L-selectin ligand on KG1a cells and its distribution in human cells. Because the KG1a cell line represents a relatively primitive, “stem” cell-like stage in human hematopoiesis, this ligand may be expressed on at least a subset of bone marrow hematopoietic progenitor cells.

Insofar as L-selectin is expressed on “stem” cells, it is possible that adhesive interactions mediated via this L-selectin-ligand pair, among progenitors themselves or between lymphocytes and progenitors, may play a role in hematopoietic events.”

Within the 1990s, my laboratory undertook extensive biochemical studies to characterize the structure and biology of the novel L-selectin ligand. During this same period, it was reported by Dr. Karin M. Schweitzer and colleagues at the Free University Hospital (Amsterdam, NL) that human bone marrow endothelial cells permanently express E-selectin. The finding that E-selectin is present on bone marrow vessels conflicted with the original description of E-selectin by Dr. Ramzi Cotran and colleagues at the Brigham and Women’s Hospital (Boston, MA), who had determined that this molecule is expressed only at endothelial beds at sites of tissue damage, following induced expression by trauma or by inflammatory cytokines (such as tumor necrosis factor and interleukin-1). Therefore, the unexpected finding that marrow endothelial cells permanently expressed E-selectin prompted us to consider whether the L-selectin ligand on HSPCs could also function as an E-selectin ligand. However, at that time, it also became clear to me that I needed to learn a great deal more about the structure of sugars and how they function as selectin ligands.

I had never been formally trained in the study of sugars (glycoscience), nor in chemistry. Accordingly, in 1997, I decided to perform a sabbatical to immerse myself in glycoscience. This was both a professionally difficult decision and a personally painful decision, as my wife (Beth) and I and our 4-year old twins (David and Danielle) were happily living in Florida. However, there was no center for glycoscience in Florida, and so I knew I had to leave Florida to learn glycoscience. The inspiration derived from the courage of my patients gave me the needed strength to leave my wife and my young children every week, from Monday-Friday, for six months to travel to Cambridge, MA to a biotech company (known as “Genetics Institute”) that was focusing its efforts on studying the structural biology of sLeX. Though I struggled deeply with the separation from my family, there was no doubt that those six months enabled me to fully grasp the implications of glycoscience in clinical medicine.

From 1997-2000, in the period following my sabbatical, I developed a series of innovative experimental approaches that led to the identification of the L-selectin ligand on human HSPCs, and studies during this period also revealed that this sugar-covered protein (a “glycoprotein”) was not only the most potent L-selectin ligand expressed on human cells, but it is also the most potent





E-selectin ligand expressed on human cells. We found that this molecule is comprised of a specialized sugar-decorated form of a well-characterized protein called “CD44.” To distinguish this structure from the usual CD44 molecule, we called this unique glycoprotein “Hematopoietic Cell E-/L-selectin Ligand” (HCELL). By definition, HCELL is a variant of CD44 that is heavily decorated with sLeX motifs, and it is the high density of sLeX display that confers the extremely potent binding to E-selectin and L-selectin. These studies were published in two reports in succession, in 2000 and 2001: (1) “A Distinct Glycoform of CD44 is an L-selectin Ligand on Human Hematopoietic Cells” *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2000;97:13841-6; and (2) “CD44 is a Major E-selectin Ligand on Human Hematopoietic Progenitor Cells” *Journal of Cell Biology*. 2001;153:1277-86. Notably, Dr. Thomas chose to personally introduce the 2000 report to the US National Academy of Sciences.

In the early 2000s, various investigators provided unequivocal evidence that expression of E-selectin on bone marrow endothelial cells is responsible for recruitment of HSPCs to marrow. Such studies clearly indicated that E-selectin ligands expressed on HSPCs could function as homing receptors to guide HSPC migration to the marrow. However, to formally assess whether HCELL functioned as an authentic “bone marrow homing receptor,” I desired to develop a method to engineer the display of sLeX on CD44. In particular, I sought to enforce HCELL expression on a cell that displayed CD44, but otherwise lacked the ability to bind E-selectin. If that HCELL-bearing cell would be able to migrate in blood flow to the marrow, then this result would definitively confirm that HCELL is a “bone marrow homing receptor.”

The capacity to modify sugars present on a defined scaffold (such as a protein) is called “glycoengineering.” Toward this end, I studied various types of cells, and settled on use of a type of human adult stem cells called “mesenchymal stem cells” (MSCs). MSCs express copious amounts of CD44, but natively lack expression of E-selectin ligands. However, most importantly, MSCs are the precursors of bone-forming cells called “osteoblasts.” As such, if it were possible to glycoengineer expression of HCELL on the human MSC surface, it could be possible to enforce trafficking of these cells into the marrow, where they might then differentiate into bone-forming osteoblasts. This approach could serve to cure serious bone diseases like osteoporosis (in adults) and osteogenesis imperfecta (in children). Also, because MSCs have the ability to dampen tissue inflammation and repair damaged tissues, it could be possible to steer MSC trafficking to any site of tissue injury by glycoengineering HCELL expression, thereby driving migration to endothelial beds expressing E-selectin.

To achieve the required glycoengineering to enforce HCELL expression, my lab had to first create the necessary reagents and techniques to enforce the needed sugar modifications without harming the cell. We chose to use nature's tools to make the needed sugar modifications: a group of enzymes called "glycosyltransferases." In particular, we created a panel of glycosyltransferases that could add, in a step-wise fashion, any type of single-sugar building-block (known as a "monosaccharide") in precise location on the cell surface without affecting native cell functions. This technology is called "Glycosyltransferase-programmed Stereosubstitution" (GPS).

Our extensive biochemical studies in the early 2000s revealed that CD44 on human MSCs is missing a key monosaccharide known as "fucose" that is needed to engender the display of sLeX, and, therefore, create HCELL. Accordingly, my lab created the needed enzymes ("fucosyltransferases") and developed the needed reaction conditions to convert MSC CD44 into HCELL. To formally test whether this approach would steer MSC trafficking into marrow, we glycoengineered HCELL expression on human MSCs and then injected these cells into mice that lack an immune system (i.e., are "immunodeficient") and therefore cannot reject foreign cells. In studies published in the journal *Nature Medicine* in 2008 ("Ex vivo Glycan Engineering Programs Human Multipotent Stromal Cell Trafficking to Bone, *Nature Medicine*. 2008;14:181-7), we reported that intravenous injection of HCELL-expressing human MSCs, but not injection of native human MSCs, resulted in high efficiency human MSC trafficking into the marrow of recipient mice, with subsequent formation of human bone tissue within the mouse bone. Notably, the mouse bone in these studies was normal bone, i.e., the mice had no bone disease. Thus, the finding of human bone formation indicated that the delivery of human MSCs into bone was sufficiently robust to produce functional human osteoblasts capable of effectively competing in bone formation against the normal mouse osteoblasts. These findings were thus not only direct evidence that HCELL serves as an authentic human bone marrow homing receptor, but also clearly indicated that HCELL-expressing human MSCs could be used in an attempt to cure systemic bone diseases such as osteoporosis and osteogenesis imperfecta. Regarding the impact of the use of HCELL-expressing MSCs in treatment of osteoporosis, a first-in-human clinical trial has been launched at the Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, University of Murcia, with the experienced guidance of my long-time friend and colleague, Dr. Jose Maria Moraleda Jimenez. Dr. Moraleda is a Professor of Medicine at the University of Murcia, and also serves as the Chief of Hematology and Director of the Bone Marrow Transplant Service at the





Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Importantly, like myself, Dr. Moraleda is a disciple of Dr. Thomas, and, as such, we are not only close colleagues, we are intellectual and spiritual brothers.

The ability to custom-modify expression of sLeX, and thereby steer cellular trafficking, offers the opportunity to fully enable the power of cell-based therapeutics. E-selectin serves as a biologic beacon and landing-pad for the recruitment of sLeX-bearing circulating blood cells to any tissue whose endothelial cells express this lectin. Therefore, what started out as a mission to find the “bone marrow homing receptor” has evolved into the platform technology for moving cells to any site in the body where E-selectin is expressed. As mentioned above, E-selectin is not only displayed on marrow vessels, but it is also expressed on vessels at any site of tissue injury, and is also expressed in vessels within cancers. Regarding the latter, the greatest hope for the future of cancer therapeutics rests in the ability to harness the capacity of immunologic cells to destroy cancer cells. Thus, the application of GPS to enforce HCELL expression has implications for optimizing both stem cell-based “regenerative” medicine and immune cell-based therapies such as for cancer, infection, or inflammatory diseases, thereby improving patient outcomes for a wide variety of disabling and life-threatening conditions.

I consider myself a bone marrow transplant clinician, but, as a scientist, I call myself a “translational glycobiologist.” Glycoscience is a discipline that spans both chemistry and biology, comprising two types of investigators, glycochemists and glycobiologists. Within the latter group of investigators, there exists a subset that undertake glycoscience-based inquiry inspired by medical necessity: I call this group of investigators translational glycobiologists. In reflecting on my career, I recognize that to meet the needs and hopes of my patients, I had to consistently overcome critical deficits in my own knowledge, let alone the broader deficits of knowledge in medical science and clinical practice. At all times, the courage of my patients, coupled with the loving support of my dear family (especially my life-companion of 40 years, Beth), has been the centerpiece of my inspiration to stay uniformly entrenched in the battle against disease, and so I share the immense honor of this doctorate from the University of Murcia with my family and with all of my patients: past, present, and future.

Discurso de Investidura como Doctor Honoris Causa

Robert Sackstein

*Excelentísimo Señor Rector Magnífico,
Miembros de la Comunidad Universitaria,
Señoras y Señores.*

Me siento sumamente honrado al recibir el doctorado, honoris causa, por la Universidad de Murcia. Seguidamente, me propongo transmitir en palabras muy personales y en términos no técnicos, cómo un esfuerzo de investigación para descubrir cómo las células en el flujo sanguíneo migran a la médula ósea, se ha convertido en la creación de una plataforma tecnológica para hacer posible todas las terapias basadas en células.

Tuve la suerte de haber crecido en la intersección de dos grandes tradiciones culturales. Nací en Cuba de madre cubana de ascendencia española y padre estadounidense de ascendencia de Europa del Este. Mi "apellido" refleja la convergencia de estas tradiciones: Sackstein-Guerrero. Si hubiera seguido viviendo en Cuba (o en cualquier otro país de habla hispana), habría llevado este nombre por el resto de mi vida. Sin embargo, poco después del inicio del régimen de Castro, mi familia y yo emigramos a los Estados Unidos. Tenía solo 4 años y a mi padre le preocupaba que fuera demasiado difícil para los estadounidenses pronunciar mi apellido. Así pues, omitió el "Guerrero" en todos mis documentos de ciudadanía de los Estados Unidos, pero el espíritu de mi herencia española se fijó en mi alma al nacer y se ha mantenido desde entonces.





Traducido literalmente, la palabra "guerrero" significa "luchador". Al ingresar en la escuela de medicina en 1977, deseaba sinceramente estar a la altura de mi nombre al convertirme en un guerrero, como médico practicante, comprometido con pasión y compasión en la batalla contra las enfermedades que amenazan la vida. Pero, poco después de comenzar la escuela de medicina, rápidamente me di cuenta que los médicos estaban en una gran desventaja en la lucha contra la enfermedad porque existían enormes lagunas en nuestra comprensión de la biología humana y, también, en nuestra comprensión de los tratamientos médicos. Por ejemplo, los esteroides fueron el pilar de la terapia para muchas enfermedades inmunitarias (y siguen siéndolo hasta el día de hoy), pero me quedó claro que teníamos vacíos importantes en nuestro conocimiento de cómo funcionan (¡y aún los hay hoy día!). También empecé a darme cuenta de que en situaciones en que los pacientes se enfrentaban a una muerte segura, los médicos tenían que realizar tratamientos médicos arriesgados para salvar la vida de las personas. Sorprendentemente, en ocasiones, en lugar de lograr los efectos beneficiosos previstos, la terapia médica a menudo aceleraba la muerte del paciente. En particular, en mi segundo año de la escuela de medicina, tuve la oportunidad de dar testimonio de las etapas iniciales de la evolución del tratamiento conocido como "trasplante de médula ósea", ahora más comúnmente llamado "trasplante de células madre hematopoyéticas" (TCMH). En este procedimiento, las células madre formadoras de sangre ("células madre hematopoyéticas" (CMHs)) se recolectan de un donante y luego se inyectan en el torrente sanguíneo de un paciente receptor. Las CMHs viajan dentro del torrente circulatorio hasta la médula del receptor y comienzan a producir nuevas células sanguíneas. En esos primeros años, presencié de primera mano que hasta el 25% de los pacientes que se sometían a TCMH murieron a las pocas semanas del procedimiento porque nunca recuperaron la producción de células sanguíneas. Este problema, llamado "fallo de injerto", me desconcertó y me sorprendió: ¿cómo podían los médicos aceptar el hecho de que un procedimiento "terapéutico" destinado a salvar la vida del paciente con frecuencia causaba la muerte más rápido que la enfermedad subyacente?

A partir de estudios en animales fundamentales en la década de 1950, en gran parte realizados en el laboratorio del Dr. E. Donnall Thomas (en ese momento, en del Hospital Mary Imogene Bassett en Cooperstown, NY), se sabía que la inyección de células recogidas de la médula del donante e inyectadas directamente en la médula del receptor era menos eficiente en la creación de nuevas células sanguíneas que el inyectar las células medulares en el torrente sanguíneo. Estas observaciones indicaron que las células madre hematopoyéticas tenían la capacidad innata de migrar desde el torrente sanguíneo específi-

camente a la médula ósea (un proceso llamado "homing" o anidamiento). Por lo tanto, se suponía que la falta de injerto podría deberse a que las CMHs de ciertos donantes, pueden no expresar un "receptor de migración a la médula ósea" que guiaría su entrada del torrente sanguíneo a la médula. Así comenzó mi viaje profesional para comprender las bases moleculares de la migración celular, especialmente la migración celular a la médula.

Para mejorar los resultados para los pacientes sometidos a TCMH, obtuve un doctorado (en inmunología) junto con mi título de doctorado en medicina, y recibí capacitación clínica en medicina interna y hematología, con especialización en el área de TCMH. Durante esta era (la década de los 80), se obtuvo una gran cantidad de información sobre la biología de las CMH humanas, en gran parte debido al descubrimiento del Dr. Curt I. Civin y sus colegas de la Universidad Johns Hopkins (Baltimore, MD) de que en la superficie externa de las CMH humanas existía una proteína llamada "CD34". Este hallazgo permitió la creación de anticuerpos contra CD34 que permitieron el aislamiento de estas células, brindando así oportunidades para estudiar su bioquímica de la superficie celular de los CMHs. Además, la disponibilidad del marcador CD34 permitió la cuantificación del número de CMHs requerido para asegurar el injerto de a partir de una recolección de médula (aproximadamente 2 millones por kilogramo de peso del receptor), o de CMHs recolectados de la sangre (a través de un proceso llamado "movilización"). Sin embargo, estudios posteriores mostraron que solo una pequeña fracción (en torno al 3%) de las CMHs administradas realmente logran entrar y anidar en la médula. Este hallazgo fue sorprendente, e indicaba claramente que existía un déficit en la migración o "homing" de las CMHs a la médula. Sin embargo, en ese momento (finales de la década de los 80), las preocupaciones sobre el fallo de injerto habían desaparecido porque simplemente podíamos recolectar el número necesario de donantes de CMH para lograr el injerto en el receptor. En consecuencia, y dado que se resolvieron los problemas de injerto, al principio no pude obtener la subvención necesaria para estudiar el homing de las CMHs a la médula ósea. Busqué el consejo del Dr. Thomas y él me alentó a seguir los estudios de los mecanismos y la bioquímica necesarios para identificar este "receptor de migración a la médula ósea". Su amistad y su consejo fueron fundamentales al darme la confianza para continuar con mis esfuerzos de investigación. Cuando el Dr. Thomas fue reconocido con el Premio Nobel de Medicina de 1990 por sus trabajos en el desarrollo de TCMH (como se indica en la redacción de Nobel, por ser pionero en el "trasplante de células en el tratamiento de enfermedades humanas"), lo llamé para felicitarlo. En lugar de hablar sobre el premio, fue (como de costumbre) extre-





madamente humilde y amable, y me alentó a que no abandonara mis estudios bioquímicos, afirmando que "el futuro está ahora en tus manos".

A finales de la década de los 80, aparte de las inmensas oportunidades de estudiar la biología de las CMHs humanas, hubo una serie de interesantes estudios que describían una nueva clase de moléculas llamadas "selectinas". Las selectinas comprenden una familia de tres moléculas, la L-selectina (también llamado CD62L), E-selectina (también llamada CD62E) y P-selectina (también llamada CD62P). En su descubrimiento inicial, se encontró que la L-selectina se encuentra en los glóbulos blancos de la sangre (también conocidos como "leucocitos"; de ahí la "L"), la E-selectina aparece en las células que comprenden el revestimiento interno de los vasos sanguíneos (conocidas como "células endoteliales", de ahí la "E") y P-selectina se muestra en las plaquetas (por lo tanto, "P"). Todas estas moléculas funcionan como "lectinas", y por definición, las lectinas son proteínas que se unen a los azúcares. En cada caso, las selectinas se unen a una estructura de azúcar conocida como "Lewis X sializado" (abreviado "sLeX").

Hubo abundante evidencia experimental que se remonta a principios de la década de los 60 de que los linfocitos expresan un "receptor de migración a ganglios linfáticos" que guía la migración de estas células de la sangre a los ganglios linfáticos. Este patrón de tráfico está programado por la unión de los linfocitos a las células endoteliales dentro de los vasos sanguíneos especializados de los ganglios linfáticos llamados "vénulas endoteliales altas" (VEA). Dado que este receptor de migración a los ganglios linfáticos mostraba características funcionales que simulaban las del receptor de migración a la médula ósea, que yo intentaba identificar en las CMHs humanas, me propuse identificar el receptor de migración a los ganglios linfáticos para entender cómo funcionaba. Trabajando con el Dr. Yee Hon Chin en la Universidad de Miami (Miami, FL), descubrimos la estructura de esta molécula al mismo tiempo que otros cuatro grupos estaban haciendo observaciones similares. En cada caso, los datos revelaron que el receptor de migración a los ganglios linfáticos era L-selectina. Por lo tanto, me pregunté si la L-selectina podría desempeñar un papel en la migración a la médula ósea, así que investigué si las CMHs humanas expresan L-selectina.

Usando una variedad de enfoques experimentales, mi laboratorio obtuvo pruebas sólidas de que la L-selectina de hecho se expresa en las CMHs humanas. Mientras estábamos trabajando en estudios para definir la bioquímica de la L-selectina expresada en las CMHs, un equipo de investigadores encabezado por el Dr. Laurence A. Lasky en Genentech (San Francisco, CA) informó que el

VEA expresa la molécula CD34 y que esta molécula CD34 se une a la L-selectina (es decir, es un "ligando" para la L-selectina). Por lo tanto, estudié si la molécula CD34 de las CMHs humanas podría unirse a la L-selectina. Para este fin, aproveché la disponibilidad de la línea celular humana conocida como "KG1a", una línea celular hematopoyética primitiva con propiedades bioquímicas de membrana celular similares a las de las CMHs nativas humanas. De hecho, las primeras observaciones de que CD34 era un marcador de CMHs humanas se realizaron utilizando esta línea celular.

Observé que ni el CD34 aislado de células KG1a ni de CMHs humanas nativas tenían la capacidad de unirse a la L-selectina, pero, para mi asombro absoluto, encontré que las células CMHs y KG1a expresan una molécula que sirve como un ligando de L-selectina altamente potente. De hecho, observé que este ligando de L-selectina era mucho más potente en la unión a la L-selectina que cualquier ligando de L-selectina expresado en el VEA de los ganglios linfáticos. Este hallazgo fue especialmente sorprendente ya que los ligandos de L-selectina se habían identificado previamente solo en células endoteliales. Estos hallazgos se publicaron en 1994 en un trabajo publicado en la revista *Blood* ("Detection of an L-selectin Ligand on a Hematopoietic Cell Line" *Blood*.1994;84:3299-3306). Cito aquí el último párrafo de ese informe:

"Los ligandos de L-selectina se han reconocido hasta ahora solo en las células endoteliales. La detección de un ligando de L-selectina en una célula no endotelial expande las implicaciones fisiológicas de la función de L-selectina más allá de su papel bien caracterizado al regular el tráfico de leucocitos. Los estudios futuros estarán dirigidos a la caracterización molecular del ligando L-selectina en células KG1a y su distribución en células humanas. Debido a que la línea celular KG1a representa un estadio relativamente primitivo, parecido al de una célula madre en la hematopoyesis humana, este ligando puede expresarse en al menos un subconjunto de células progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea. En la medida en que la L-selectina se expresa en células 'madre', es posible que las interacciones adhesivas mediadas a través de este par de L-selectina-ligando, entre los progenitores mismos o entre los linfocitos y los progenitores, puedan desempeñar un papel en los eventos hematopoyéticos".

En la década de los 90, mi laboratorio llevó a cabo estudios bioquímicos exhaustivos para caracterizar la estructura y la biología del nuevo ligando de la L-selectina. Durante este mismo período, Dr. Karin M. Schweitzer y sus colegas en el Free University Hospital (Amsterdam, NL) informaron que las células endoteliales de la médula ósea humana expresan permanentemente la E-selectina.





El hallazgo de que la E-selectina está presente en los vasos de la médula ósea está en conflicto con la descripción original de la E-selectina por Dr. Ramzi Contran y sus colegas en el Hospital Brigham and Women's (Boston, MA), quienes determinaron que esta molécula se expresa solo en lechos endoteliales en sitios donde hay daño tisular, después de la expresión inducida por traumatismo o por citoquinas inflamatorias (tales como el factor de necrosis tumoral y la interleucina-1). Por lo tanto, el hallazgo inesperado de que las células endoteliales de médula ósea expresaban de forma permanente la E-selectina nos llevó a considerar si el ligando de L-selectina en las CMHs podría funcionar también como un ligando de E-selectina. Sin embargo, en ese momento, me quedó claro que necesitaba aprender mucho más sobre la estructura de los azúcares y cómo funcionan como ligandos de selectina.

Nunca había sido formalmente entrenado para el estudio de los azúcares (glicociencia), ni en química. En consecuencia, en 1997, decidí realizar/tomar un tiempo sabático para sumergirme en la glicociencia. Esta fue una decisión profesionalmente difícil y personalmente dolorosa, ya que mi esposa (Beth) y yo y nuestros gemelos de 4 años (David y Danielle) vivíamos felices en Florida. Sin embargo, no había un centro para la glicociencia en Florida, por lo que sabía que tenía que salir a otro lugar a aprenderla. La inspiración derivada del coraje de mis pacientes me dio la fuerza necesaria para dejar a mi esposa y mis hijos todas las semanas, de lunes a viernes, durante seis meses, para viajar a Cambridge, MA, a una compañía de biotecnología (conocida como "Genetics Institute") que estaba centrando sus esfuerzos en estudiar la biología estructural de sLeX. Aunque fue muy dura la separación de mi familia, no había duda de que esos seis meses me permitieron comprender completamente las implicaciones de la glicociencia en la medicina clínica.

Desde 1997-2000, en el período que siguió a mi año sabático, desarrollé una serie de enfoques experimentales innovadores que llevaron a la identificación del ligando de L-selectina en las CMHs humanas, y los estudios realizados durante este período también revelaron que esta proteína cubierta de azúcar (una "glicoproteína") no solo es el ligando más potente de selectina-L expresado en células humanas, sino que también es el ligando de selectina-E más potente expresado en células humanas. Descubrimos que esta molécula se compone de una forma especial decorada con azúcar de una proteína bien caracterizada llamada "CD44". Para distinguir esta estructura de la molécula CD44 habitual, llamamos a esta glicoproteína única "Ligando de selectina E-L de Células Hematopoyéticas" o, en inglés, "Hematopoietic Cell E-/L-selectin Ligand" (HCELL). Por definición, HCELL es una variante de CD44 que está muy deco-

rada con motivos sLeX, y es la alta densidad de sLeX la que le confiere la unión extremadamente potente a E-selectina y L-selectina. Estos estudios se publicaron en dos trabajos sucesivos, en 2000 y 2001: "A Distinct Glycoform of CD44 is an L-selectin Ligand on Human Hematopoietic Cells" *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2000;97:13841-6; and (2) "CD44 is a Major E-selectin Ligand on Human Hematopoietic Progenitor Cells" *Journal of Cell Biology*. 2001;153:1277-86. Cabe resaltar que el Dr. Thomas eligió personalmente introducir el trabajo de la Academia Nacional de Ciencias de EE. UU.

A principios de la década de 2000, varios investigadores proporcionaron evidencias inequívocas de que la expresión de E-selectina en células endoteliales de médula ósea es la responsable del reclutamiento de CMHs a la médula. Tales estudios indicaron claramente que los ligandos de E-selectina expresados en las CMHs podrían funcionar como receptores de migración para guiar las CMH a la médula. Sin embargo, para evaluar formalmente si HCELL funcionaba como un auténtico "receptor de migración de la médula ósea", tenía que desarrollar un método para ingenierizar la expresión de sLeX en CD44. En particular, traté de reforzar la expresión HCELL en una célula que expresaba CD44, pero por otro lado carecía de la capacidad de unir E-selectina. Si esa célula portadora de HCELL pudiera migrar desde el flujo sanguíneo a la médula, entonces este resultado confirmaría definitivamente que HCELL es un "receptor de migración a la médula ósea".

La capacidad de modificar los azúcares presentes en un andamio definido (como las proteínas) se denomina "glicoingeniería". Con este fin, estudié varios tipos de células y me decidí por el uso de un tipo de células madre adultas humanas llamadas "células madre mesenquimales" (CMMs). Las CMMs expresan cantidades abundantes de CD44, pero carecen de expresión nativa de ligandos de E-selectina. Sin embargo, lo más importante es que las CMMs son los precursores de las células formadoras de hueso llamadas "osteoblastos". Como tal, si fuera posible instalar la expresión de HCELL en la superficie del MSC humano con glicoingeniería, podría ser posible forzar el tráfico de estas células hacia la médula, donde posteriormente podrían diferenciarse en osteoblastos formadores de hueso. Este enfoque podría servir para curar enfermedades óseas graves como la osteoporosis (en adultos) y la osteogénesis imperfecta (en niños). Además, dado que las CMMs tienen la capacidad de amortiguar la inflamación de los tejidos y reparar los tejidos dañados, podría ser posible dirigir el tráfico de CMMs a cualquier sitio de lesión tisular mediante la expresión de HCELL en glicoingeniería, lo que dirigiría la migración a los lechos endoteliales que expresan E-selectina.





Para lograr la glicoingeniería requerida para instalar la expresión de HCELL, mi laboratorio tuvo que crear primero los reactivos y las técnicas necesarias para colocar las modificaciones necesarias en el azúcar sin dañar la célula. Elegimos utilizar las herramientas de la naturaleza para realizar las modificaciones necesarias del azúcar: un grupo de enzimas llamadas “glicosiltransferasas”. En particular, creamos un panel de glicosiltransferasas que podrían agregar, de manera escalonada cualquier tipo de azúcar simple (denominado monosacárido) en una localización precisa de la superficie celular sin afectar las funciones celulares nativas. Esta tecnología se denomina "Estereosustitución programada con glicosiltransferasa" (en inglés, “Glycosyltransferase-programmed Stereosubstitution” (GPS)).

Nuestros extensos estudios bioquímicos a principios de la década de 2000 revelaron que la CD44 en CMMs humanas le falta un monosacárido clave conocido como "fucosa" que se necesita para generar la expresión de sLeX y, por lo tanto, crear HCELL. En consecuencia, mi laboratorio creó las enzimas necesarias ("fucosiltransferasas") y desarrolló las condiciones de reacción necesarias para convertir CMM CD44 hasta HCELL. Para probar formalmente si este enfoque dirigiría el tráfico de CMMs hacia la médula, forzamos mediante glicoingeniería la expresión de HCELL en CMMs humanas y luego inyectamos estas células en ratones que carecen de un sistema inmunológico (es decir, son “inmunodeficientes”) y, por lo tanto, no pueden rechazar células extrañas. En estudios publicados en la revista *Nature Medicine* en 2008 (“Ex vivo Glycan Engineering Programs Human Multipotent Stromal Cell Trafficking to Bone, *Nature Medicine*. 2008;14:181-7), reportamos que la inyección de CMMs humanas que expresan HCELL, pero no la inyección de CMMs humanas nativas, dio como resultado un tráfico muy eficiente de las CMMs humanas en la médula ósea de los ratones receptores, con la posterior formación de tejido óseo humano dentro del hueso del ratón. Notablemente, el hueso de ratón en estos estudios era hueso normal, es decir, los ratones no tenían enfermedad ósea. Por lo tanto, el descubrimiento de la formación de hueso humano indicó que el suministro de CMMs humanas en el hueso era lo suficientemente robusto para producir osteoblastos humanos funcionales capaces de competir eficazmente en la formación de hueso contra los osteoblastos normales de ratón. Por lo tanto, estos hallazgos no solo fueron prueba directa de que HCELL sirve como un auténtico receptor de migración a la médula ósea humana, sino que también indicaron claramente que las CMMs humanas que expresan HCELL podrían usarse para intentar curar enfermedades óseas sistémicas como la osteoporosis y la osteogénesis imperfecta. En este sentido y para confirmar el potencial impacto del

uso de CMMs que expresan HCELL en el tratamiento de la osteoporosis, se lanzó un primer ensayo clínico en humanos en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca en la Universidad de Murcia, con la colaboración y guía experimentada de mi amigo y colega de hace mucho tiempo, el doctor José María Moraleda Jiménez. El Dr. Moraleda es catedrático de medicina en la Universidad de Murcia, así como jefe del Servicio de Hematología y director del programa de Trasplante de Médula Ósea del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Es importante destacar que, al igual que yo, el Dr. Moraleda es un discípulo del Dr. Donnall Thomas y como tal, no solo somos colegas cercanos, sino también somos hermanos intelectuales y espirituales.

La capacidad de modificar de forma la expresión de sLeX y, por lo tanto, dirigir el tráfico celular, ofrece la oportunidad de habilitar en todo su potencial el poder de las terapias basadas en células. La E-selectina sirve como faro biológico y plataforma de aterrizaje para el reclutamiento de células sanguíneas circulantes que llevan sLeX a cualquier tejido cuyas células endoteliales lleven esta lectina. Por lo tanto, lo que comenzó como una misión para encontrar el "receptor de conducimiento de la médula ósea" ha evolucionado en una plataforma tecnológica para dirigir el tráfico de las células a cualquier sitio del cuerpo donde se expresa la E-selectina. Como se mencionó anteriormente, la E-selectina no sólo se muestra en los vasos medulares, sino que también se expresa en vasos en cualquier sitio de lesión tisular y también se expresa en vasos dentro de los cánceres. En este sentido, la mayor esperanza para el tratamiento del cáncer reside en la capacidad de reclutar las células del sistema inmunológico para que destruyan las células cancerosas. Por tanto, la aplicación de GPS para forzar la expresión de HCELL tiene implicaciones para optimizar tanto la medicina "regenerativa" basada en células madre, como las terapias basadas en células inmunitarias contra el cáncer, las infecciones o las enfermedades inflamatorias, lo que en última instancia mejorará los resultados del tratamiento de una amplia variedad de enfermedades que amenazan la vida.

Me considero un médico especialista en trasplantes de médula ósea, pero, como científico, me considero un "glicobiólogo traslacional". La glicociencia es una disciplina que abarca tanto la química como la biología, y comprende a dos tipos de investigadores: glicoquímicos y glicobiólogos. Dentro de este último grupo de investigadores, existe un subgrupo realiza una investigación basada en la glicociencia pero inspirada por la necesidad médica: denomino a este grupo de investigadores "glicobiólogos traslacionales". Al reflexionar sobre mi carrera, reconozco que para satisfacer las necesidades y esperanzas de mis pacientes, tuve que superar constantemente las deficiencias de mi propio conoci-





miento además del desconocimiento existente en la ciencia médica y la práctica clínica. En todo momento, el coraje de mis pacientes, junto con el apoyo amoroso e incondicional de mi querida familia (especialmente mi compañera de vida desde hace 40 años, Beth), han sido la pieza central de mi inspiración para permanecer completamente enfocado en la batalla contra la enfermedad, y por eso comparto el inmenso honor de este doctorado de la Universidad de Murcia con mi familia y con todos mis pacientes: pasado(s), presente(s) y futuro(s).

