

Los Premios Nobel 2004 en Fisiología o Medicina y en Química: La importancia de los olores y del «Beso de la muerte»

JUAN RAMÓN LACADENA CALERO

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

RESUMEN

Como introducción a la sesión científica que esta Real Academia dedica a los Premios Nobel 2004 en Fisiología o Medicina, se hace un breve comentario al trabajo de los doctores Axel y Buck sobre los receptores olfativos y la organización del sistema olfativo dentro de un marco de referencia de la Genética del Comportamiento Humano de la percepción de los sentidos. El trabajo seminal de Axel y Buck de 1991 permitió caracterizar 18 miembros diferentes de una familia multi-génica que codifica para siete dominios proteicos transmembrana cuya expresión está restringida al epitelio olfativo. Posteriormente, ambos dedicaron sus esfuerzos en clarificar el sistema del olfato desde el nivel molecular al de organización topográfica celular.

En cuanto al Premio Nobel 2004 en Química, se glosa brevemente el trabajo de los doctores Ciechanover, Hershko y Rose, sobre la degradación de las proteínas mediatizada por ubiquitina. La degradación de las proteínas por los proteosomas responde a un proceso altamente regulado que comienza con su marcado molecular: el «beso de la muerte» de las ubiquitinas.

Palabras clave: Sistema olfativo.—Receptores olfativos.—Degradación proteínas.—Ubiquitinas.

ABSTRACT

As an introduction to the scientific session that the National Royal Academy of Pharmacy devotes to the Nobel Prize in Physiology or Medicine 2004, a brief

commentary is made about the investigations carried out by Drs. Axel and Buck on odorant receptors and the organization of the olfactory system. In their pivotal work of 1991, they described a very large multigene family for odorant receptors, characterizing 18 members that encode seven transmembrane domain proteins whose expression is restricted to the olfactory epithelium. Afterwards, working independently, they clarify the olfactory system, from the molecular level to the organization of the cells involved.

In regard to the Nobel Prize in Chemistry 2004, the investigations of Drs. Ciechanover, Hersko and Rose on the ubiquitin-mediated protein degradation is briefly commented. The protein degradation by the proteasomes is not indiscriminated but highly regulated. The controlled process begins when the protein is labelled by ubiquitin: it is the «kiss of death».

Key words: Olfactory system.—Odorant receptors.—Protein degradation.—Ubiquitin.

PRESENTACIÓN

Un año más, la Real Academia Nacional de Farmacia celebra una sesión científica para tratar los Premios Nobel en Fisiología o Medicina y en Química que en este año 2004 han recaído, respectivamente, en el doctor Richard Axel y la doctora Linda B. Buck, «por sus descubrimientos de los receptores olfativos y la organización del sistema olfativo», y en los doctores Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose, «por el descubrimiento de la degradación de proteínas mediatizada por ubiquitina». Para hablarnos del contenido científico de las investigaciones que han dado lugar a estos premios contamos hoy con las intervenciones de las Excmas. Sras. Académicas Numerarias de esta Real Academia Nacional de Farmacia, doña María Teresa Miras Portugal y doña María Cascales Angosto. Antes de darles a ellas la palabra, permítaseme decir unas breves ideas sobre los premios en cuestión, especialmente sobre el de Fisiología o Medicina.

Cuando los medios de comunicación dieron a conocer que el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2004 tenía que ver con el sentido del olfato, inmediatamente vino a mi mente la novela «El perfume», de Patrick Süskind, escrita en 1985, que fue un gran éxito editorial en Alemania y traducida ese mismo año al español.

En las primeras páginas de su novela de género negro, Süskind nos relata el drama de un recién nacido llamado Jean-Baptiste Grenouille que, como no olía a nada, su horrorizada nodriza se negó a seguir criándole: «Si la cuestión tiene o no algo que ver con el demonio —le decía la nodriza al padre Terrier—, no es asunto de mi incumbencia. Yo sólo sé una cosa: que este niño me horroriza porque no huele como deben oler los lactantes». A partir de ahí, la trama apasionante de la novela se desarrolla en función de que aquel ser anómalo, que no olía a nada de recién nacido, sin embargo tenía enormemente desarrollado el sentido del olfato porque poseía una nariz privilegiada que le permitía identificar a gran distancia, incluso a través de las paredes, cualquier efluvio. Esta condición le convirtió en un individuo maldito, en un monstruo.

No cabe duda que el olor es importante porque es capaz de identificar muchas cosas. Ya lo dijo Shakespeare: «Una rosa, con otro nombre, tendría el mismo aroma». Por otro lado, al leer en «Hamlet», también del mismo Shakespeare, la expresión: «algo huele a podrido en Dinamarca», inmediatamente somos capaces de recordar el olor a podrido. ¿Por qué tenemos metidos los olores en el cerebro? Esa es la «lógica del olfato», utilizando la expresión que dijo en 2001 una de las personas galardonadas con este premio Nobel.

Como supongo que la profesora Miras abordará su intervención más desde el punto de vista neurobiológico, permítaseme que yo haga una breve disquisición desde el punto de vista de la Genética.

GENÉTICA DEL COMPORTAMIENTO

Dentro de la Biología en general y de la Genética en particular, no hay duda de que el desarrollo de los organismos es uno de los temas más fundamentales y fascinantes. De hecho, no hace muchos años, las investigaciones sobre el control genético del desarrollo les valió el Premio Nobel en Fisiología o Medicina a Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard y Erick F. Wieschaus, «por sus descubrimientos sobre el control genético del desarrollo temprano del embrión» (1995), y a Sydney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulston, «por sus descubrimientos sobre la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada» (2002).

En el proceso de desarrollo cabe distinguir los siguientes fenómenos o componentes del desarrollo: la replicación genética, la proliferación celular, la citodiferenciación, la histogénesis como resultado de la agregación de las células diferenciadas para constituir un tejido con función especializada, la organogénesis como consecuencia de la asociación de tejidos que da como resultado final la forma del individuo (morfogénesis) y, finalmente, el comportamiento como última expresión multidimensional del desarrollo. En términos genéticos analógicos podría decirse que en el proceso de desarrollo se pasa de la información genética unidimensional contenida en la secuencia lineal de bases nitrogenadas de la molécula de ADN, a las hojas blastodérmicas bidimensionales, que tras un proceso morfogenético se transforman en el individuo tridimensional que exhibirá unas pautas de comportamiento multidimensional a lo largo de su vida (Lacadena, 1988, 1999).

Desde el punto de vista genético, el comportamiento es, quizá, uno de los componentes del desarrollo más difíciles de analizar, pero no por eso fuera del alcance de un control genético. Siguiendo al profesor Pinillos (1969), una definición sencilla para algo que puede ser tan complejo es definir el comportamiento como «cualquier reacción a cualquier estímulo». Dentro de la escala evolutiva de los seres vivos, el comportamiento se manifiesta a distintos niveles, incluyendo desde los tropismos y taxias más simples a las formas más complejas que se encuentran en los vertebrados como son los reflejos, los instintos, el aprendizaje y la inteligencia en sus distintos grados.

La Genética del comportamiento estudia el control genético de las acciones de los organismos, entendiendo como acción cualquier respuesta a cualquier estímulo (Lacadena, 1988). Las dificultades que presenta el análisis genético del comportamiento provienen fundamentalmente de tres fuentes: 1) la ambigüedad con que se establece en ocasiones el propio concepto de comportamiento, de manera que mal podremos analizar genéticamente algo sin saber a ciencia cierta lo que pretendemos estudiar; 2) la distancia entre el fenotipo (la pauta de comportamiento) y el genotipo que lo determina, pues entre ambos media un complejo camino fisiológico que recorrer, ya que la acción genética primaria puede afectar a los órganos sensoriales (receptores), cambiando la información recibida; al sistema

intermediario nervioso o endocrino (conductores), alterando las capacidades de coordinación o percepción y a los órganos efectores musculares o glandulares, modificando la respuesta; 3) la influencia del ambiente en la manifestación del fenotipo que es la pauta de comportamiento: el fenotipo es la expresión del genotipo en un ambiente determinado, resultando difícil en muchos análisis genéticos del comportamiento discernir la importancia relativa de los componentes genético y ambiental.

Respecto a la metodología genética cabe decir que existen dos tipos de aproximaciones opuestas: partiendo de genotipos mutantes tratar de analizar las posibles variaciones del patrón de comportamiento (método genotípico) o bien, a partir de la variabilidad fenotípica de comportamiento observada, tratar de conocer su base genética (método fenotípico).

Los estudios genéticos del comportamiento humano se pueden sistematizar agrupándolos en cuatro apartados: la percepción de los sentidos (vista, oído, olfato, gusto y tacto), la estructura de la personalidad, la inteligencia y las anomalías de la razón (que pueden o no afectar a la capacidad intelectual). En lo que se refiere a la percepción de los sentidos, se han descrito desde hace mucho tiempo estudios genéticos sobre el daltonismo, la sordera, la sensibilidad para ciertos gustos, etc. Es obvio que en el presente contexto del Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2004, lo que nos interese sea el sentido del olfato.

El 4 de octubre de 2004, la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska hacía pública la concesión del premio Nobel en Fisiología o Medicina conjuntamente al doctor Richard Axel y a la doctora Linda B. Buck, por sus descubrimientos de los «receptores olfativos (odorant) y la organización del sistema olfativo» («odorant receptors and the organization of the olfactory system»). Aquí debo manifestar mi dificultad de transcribir adecuadamente en español los términos ingleses «odorant» (oloroso) y «olfactory» (olfativo y olfatorio). Como se indica en la comunicación oficial del Instituto Karolinska a la prensa, el sentido del olfato humano ha sido el más enigmático de nuestros sentidos, de manera que durante largo tiempo fueron desconocidos los fundamentos científicos básicos por los que se reconocen y recuerdan los 10.000 olores diferentes estimados.

Cada célula receptora olfativa (olfactory) posee un solo tipo de receptor olfativo (odorant) y, a su vez, cada receptor puede detectar un número limitado de sustancias olorosas (odorant); es decir, cada una de nuestras células receptoras olfativas (olfactory) está altamente especializada para unos pocos olores.

Los estudios pioneros de Axel y Buck partieron de un trabajo conjunto que publicaron en 1991 en la revista *Cell*, en el que describían en ratas la clonación y caracterización de 18 miembros diferentes de una familia multigénica extremadamente grande (posiblemente, varios centenares de genes) que codifica para siete dominios proteicos transmembrana cuya expresión está restringida al epitelio olfativo, concluyendo que la familia de genes descubierta codifica para receptores olfativos.

La estrategia experimental diseñada por Axel y Buck para aislar los genes que codifican para receptores olfativos la basaron en los tres supuestos siguientes: 1) los receptores olfativos deberían de pertenecer a la superfamilia de receptores proteicos que transducen señales intracelulares por acoplamiento a proteínas que se unen a GTP; 2) el elevado número de moléculas químicas olorosas diferentes que existe sugiere que los propios receptores olfativos deberían mostrar una gran diversidad y, consecuentemente, estar codificados por una familia multigénica; 3) la expresión de los receptores olfativos debería estar restringida al epitelio olfativo.

La identificación en el epitelio olfativo de la superfamilia proteica con los siete dominios transmembrana se llevó a cabo por amplificación del ADN homólogo de los genes de la superfamilia génica mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir del ARN aislado de células del epitelio olfativo.

Con posterioridad a este trabajo pionero, Richard Axel y Linda B. Buck continuaron sus investigaciones de forma independiente aunque a veces por rutas paralelas. Gracias a sus estudios llegaron a clarificar el sistema del olfato desde el nivel molecular al de organización topográfica celular. Por ejemplo, las neuronas olfativas que expresan un determinado receptor olfativo se proyectan con precisión a 2 de los 1.800 glomérulos dentro del bulbo olfatorio para crear un mapa topográfico de calidad olorosa. Pues bien, Axel y colaboradores (Wang et al., 1998) demostraron que mutaciones por

delección o mutaciones sin sentido del gen que codifica para el receptor olfativo P2 determinan que los axones de estas células se dispersen en lugar de converger sobre un glomérulo específico. Asimismo, la sustitución del gen P2 por la región codificadora del gen P3 da lugar a que los axones P3 → P2 se proyecten hacia un glomérulo cercano al glomérulo tipo P3. Sus conclusiones señalaban que el receptor olfativo juega un papel instructivo en el establecimiento del mapa topográfico.

Uno de los más recientes trabajos publicados por Axel en la revista *Nature* en colaboración con el grupo de Jaenisch (4 de marzo de 2004) ha sido la obtención de ratones clónicos obtenidos a partir de la transferencia de núcleos procedentes de neuronas sensoriales olfativas a ovocitos enucleados, demostrando que el patrón de expresión y organización de los genes de receptores olfativos no varía en los ratones clónicos en relación con los ratones normales (Eggan et al., 2004). Por otra parte, podemos mencionar también el trabajo de Buck y colaboradores (Zou et al., 2001) quienes, utilizando ratones transgénicos obtenidos mediante la técnica de recombinación homóloga (gene targeting) en células troncales embrionarias, demostraron mediante experimentos de trazabilidad o seguimiento (tracing) genético la existencia de un mapa sensorial estereotipado en el cortex olfatorio del ratón. En cierta ocasión, Linda B. Buck dio una conferencia en el Instituto Karolinska durante el Nobel Symposia del 7 de diciembre de 2001 sobre la «lógica del olfato» («the logic of smell»), sin duda como premonición del galardón máximo que iba a recibir tres años después.

En este contexto de los olores y el olfato puede hacerse referencia también a las feromonas, moléculas que pueden influir en diferentes comportamientos sociales, especialmente en los animales, y cuyo papel evolutivo puede ser importante por cuanto afectan a la reproducción. Axel y Buck descubrieron, trabajando por separado, que las feromonas son detectadas por otras dos familias de receptores acoplados a la proteína G (GPCR) localizados en una parte diferente del epitelio nasal.

Permítaseme recordar, en este contexto, la importancia de los olores. Cuentan de Napoleón Bonaparte que cuando, estando en campaña, decidía volver a la retaguardia escribía a la emperatriz Josefina anunciándole su visita con varios días de antelación y ro-

gándole que no se lavara durante ese tiempo. Algo similar sería el caso de los gitanos que les gusta el «olor de su hembra», citándose lo sucedido con aquel gitano que quería agredir a un médico de un hospital porque habían obligado a duchar a su mujer y le habían quitado el «olor a hembra».

EL «BESO DE LA MUERTE»: EL PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2004

El 6 de octubre de 2004, la Real Academia de Ciencias de Suecia decidió otorgar el Premio Nobel en Química 2004 conjuntamente a los doctores Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose, «por el descubrimiento de la degradación de proteínas mediatizada por ubiquitina». Como dice la comunicación oficial de la Academia y han recogido las propias revistas científicas (como *Nature*) y numerosos medios de comunicación, el argumento de las investigaciones premiadas es el «beso de la muerte», en alusión a la película de cine negro de 1947, «Kiss of death», del director Henry Hathaway. En 2002, el Premio Nobel en Fisiología o Medicina premiaba las investigaciones sobre apoptosis o muerte celular programada, este año 2004 se ha premiado el control de la destrucción de las proteínas. Esperemos que estas investigaciones no supongan una visión pesimista de la vida.

Las investigaciones de los tres galardonados han permitido darnos cuenta de que la célula funciona como una estación de control (checking station) donde las proteínas son construidas y destruidas a un ritmo frenético. Como señala la nota de prensa de la Academia sueca, durante mucho tiempo el interés de la ciencia se fijaba más en la construcción que en la destrucción de las proteínas. Sin embargo, hoy se ha llegado a saber que la degradación de las proteínas no se produce de forma indiscriminada, sino que el proceso está altamente regulado de manera que las proteínas que han de ser destruidas sufren un etiquetado molecular —el «beso de la muerte»— y luego degradadas en los proteosomas. El etiquetado molecular consiste en la molécula llamada ubiquitina. Procesos celulares tan importantes como la división celular, la reparación del ADN, el control de calidad de las proteínas de nueva síntesis y los sistemas inmuno-

lógicos de defensa, por citar algunos de ellos, son ejemplos de procesos controlados por la degradación de proteínas mediatizada por ubiquitina.

Los trabajos seminales de Ciechanover y de Hershko fueron publicados en los Proceedings of the National Academy of Sciences de los Estados Unidos en 1980. Como ya ha ocurrido en otras ocasiones, la limitación a tres del número máximo de galardonados por cada premio Nobel ha dejado fuera al doctor Alexander Varshavsky, biólogo celular del California Institute of Technology en Pasadena, cuyo trabajo en levaduras sirvió para confirmar el papel de las ubiquitinas. Como señalaba un comentarista de la revista *Nature*, la posición de Varshavsky, más próxima a la biología celular que a la bioquímica, le ha alejado del premio Nobel de Química. Por el contrario, el doctor Irwin A. Rose estudió la química que subyace en el sendero de las ubiquitinas, poniendo las bases para las investigaciones realizadas en los años ochenta por Ciechanover y Hershko. El propio Hershko lamentaba lo ocurrido y decía que «la importancia de lo que hemos hecho solamente se aclaró después del trabajo de Varshavsky» (Giles, 2004).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) BUCK, L.; AXEL, R. (1991). A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65: 175-187.
- (2) CIECHANOVER, A.; HELLER, H.; ELIAS, S.; HAAS, A. L.; HERSHKO, A. (1980). ATP-dependent conjugation of reticulocyte proteins with the polypeptide required for protein degradation. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 77: 1365-1368.
- (3) EGGAN, K.; BALWIN, K.; TACKETT, M.; OSBORNE, J.; CHESSE, A.; AXEL, R.; JAENISCH, R. (2004). Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature*, 428: 44-49.
- (4) GILES, J. (2004). Chemistry Nobel for trio who revealed molecular death-tag. *Nature*, 431: 729.
- (5) HERSHKO, A.; CIECHANOVER, A.; HELLER, H.; HAAS, A. L.; ROSE, I. A. (1980). Proposed role of ATP in protein breakdown: Conjugation of proteins with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 77: 1783-1786.
- (6) LACADENA, J. R. (1988). Genética (4.^a edición), (Capítulo XXI: Genética del comportamiento), A.G.E.S.A., Madrid.
- (7) LACADENA, J. R. (1999). Genética General. Conceptos fundamentales. (Capítulo 16: Genética del desarrollo en eucariontes), Editorial Síntesis, Madrid.
- (8) PINILLOS, J. L. (1969). La mente humana. Biblioteca Básica Salvat de Libros RTV.

- (9) SÜSKIND, P. (1985). El perfume. Seix Barral, S. A., Barcelona.
- (10) WANG, F.; NEMES, A.; MENDELSON, M.; AXEL, R. (1998). Odorant receptors govern the formation of a precise topographic map. *Cell*, 93: 47-60.
- (11) ZOU, Z.; HOROWITZ, L. S.; MONTMAYEUR, J.-P.; SNAPPER, S.; BUCK, L. B. (2001). Genetic tracing reveals the stereotyped sensory map in the olfactory cortex. *Nature*, 414: 173-179.