

ARTÍCULO POR INVITACIÓN

EL OLFATO Y SUS RECEPTORES. LA HISTORIA DE UN NOBEL

J. MULLOL I MIRET

UNITAT DE RINOLOGIA. SERVEI D'OTORINO-LARINGOLOGIA. ICEMEQ. HOSPITAL CLÍNIC DE BARCELONA. IDIBAPS.

La comunidad médica, los otorrinolaringólogos y en especial los rinólogos con interés por el olfato estamos de enhorabuena. El lunes 4 de octubre de 2004, la Academia Sueca premió a Linda Buck y Richard Axel (Figura 1) con el Nobel de Medicina o Fisiología por los trabajos que llevaron al descubrimiento de la familia de genes que codifican las proteínas receptoras del olfato, sobre todo por un trabajo firmado por ambos autores y que fue publicado en 1991 en la revista *Cell*¹.

HISTORIA DE UN SENTIDO

El olfato, junto a los otros sentidos, vela por nosotros dando a nuestro cerebro la información necesaria para movernos en el mundo que nos rodea. Estamos acostumbrados a hablar de buenos o malos olores, a apreciar el olor de una comida incluso antes de verla, a detectar el olor de los alimentos en putrefacción sin tan siquiera abrir la tapa del contenedor de basuras o a reconocer los perfumes o el olor personal de un ser querido². No obstante, no siempre nos damos cuenta de la importancia de este sentido.

Pero la historia de este sentido empieza mucho tiempo atrás, hace casi 3.500 millones de años cuando, durante la aparición de la vida en la Tierra, las primeras células desarrollaron ya un sentido químico para percibir la información que les llegaba de su entorno. El olfato es pues el sentido más primitivo y el primero en aparecer en la escala evolutiva, representando durante millones de años una función relevante y vital para los organismos vivos. Tras evolucionar en los peces, el olfato se separa anatómicamente del gusto en los anfibios hace 400 millones de años. Las plantas utili-

zan el olor de sus flores para atraer insectos y diseminar su polen y fertilizar otras plantas. Los insectos sociales como las hormigas se reconocen y se orientan por el olor, mientras otros como los mosquitos seleccionan a sus presas también por el olor. Los machos de algunas mariposas perciben el olor de las hembras (feromonas) a varios kilómetros de distancia, mientras algunos peces como el salmón reconocen por el olor rutas fluviales para la puesta de sus huevos. Perros y leones usan sus fluidos corporales para marcar y defender su territorio. Los mamíferos reconocen por el olor a sus hijos. Los carnívoros, como los leones o los guepardos, localizan sus presas por el olor, mientras los herbívoros también detectan a sus depredadores mediante este sentido.

A lo largo de nuestra evolución, los hombres y las mujeres hemos aprendido a asociar los olores con situaciones *agradables*, a limpio o a humedad,



Figura 1. Richard Axel y Linda Buck, galardonados con el premio Nobel de Medicina o Fisiología 2004.

Correspondencia: Joaquim Mullol i Miret. Unitat de Rinologia. Servei d'Otorinolaringologia. ICEMEQ. Hospital Clínic. C/ Villarroel 170. 08036 Barcelona. E-mail: jmullol@clinic.ub.es

Tabla 1: Principales investigaciones y descubrimientos en el campo de la genética, precursores del Nobel 2004 a los genes del olfato

Descubrimiento	Investigadores	Premio Nobel
Leyes de la herencia en el guisante (1866)	Gregorio Mendel	-
Estructura en "doble hélice" del ADN (1953)	James D. Watson Francis H.C. Crick Maurice H.F. Wilkins	1962
Secuenciación de proteínas (insulina)	Frederick Sanger	1958
Polimerasa del ADN (síntesis del ADN)	Arthur Kornberg Severo Ochoa	1959
Código genético (de ARNm a proteínas)	Har G. Khorana Marshall W. Nirenberg	1968
Transcriptasa inversa (de ARN a ADNc)	Howard M. Temin David Baltimore	1975
ADN recombinante	Frederick Sanger Walter Gilbert Paul Berg	1980
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Kary Mullis	1993
Secuenciación del Genoma Humano (2001)	Proyecto Genoma Humano (PGH) Celera Genomics	-
Familia de genes que codifican los receptores olfatorios (1991)	Linda Buck Richard Axel	2004

así como a sensaciones de *rechazo*, a alimentos en mal estado, de *miedo* al fuego o a los depredadores, de *atracción* a las flores y perfumes o a los seres amados, o de *recuerdo* a una escena de nuestra infancia evocada vívidamente por un olor. Nuestro olfato sufre una fase importante de aprendizaje hasta los 20 años, manteniéndose estable hasta los 40 años y empezando a decaer a partir de los 50. Numerosos estudios han demostrado que las mujeres tienen mejor olfato y al envejecer lo pierden en menor grado que los hombres. Es, además, un sentido con numerosas interconexiones con los centros de la memoria y de las emociones.

Aunque en los seres humanos la pérdida del olfato no representa una alteración tan vital como en los animales, pueden crear importantes trastornos alimentarios, afectivos e incluso de seguridad con un importante impacto en la calidad de vida en quien la padece. Las principales causas de alteración o pérdida del olfato, ya sea temporal o permanente, son el resfriado común, la inflamación de la mucosa nasosinusal (la rinosinusitis crónica y los pólipos nasales), los traumatismos craneofaciales, el tabaquismo y las enfermedades neurodegenerativas (enfermedad de Alzheimer y de Parkinson). Un segundo grupo de causas menos frecuentes son las genéticas (síndrome de Kallman), los medicamentos, la cocaína, la exposición

a tóxicos y contaminantes, o los factores nutricionales. Los resultados preliminares de un estudio epidemiológico reciente (OLFACAT, 2003), realizado en una amplia muestra de la población general catalana, demuestran que un 1% de la población presenta una pérdida total del olfato (anosmia) mientras casi un 20% presenta una pérdida parcial (hiposmia).

HISTORIA DE UN NOBEL

La fisiología y la medicina han dado pasos de gigante en los últimos 100 años y quizás sea la genética y la reciente secuenciación del genoma humano los que mejor caractericen estos avances. Como decía Santiago Ramón y Cajal, el éxito en la investigación médica es consecuencia de una inteligencia mediana y de mucho trabajo, pero también lo es de todos aquellos que han trabajado previamente y consolidado nuestro conocimiento. Por ello, es de gran importancia destacar aquellos estudios que han sido determinantes para poder llevar a cabo la investigación sobre los genes del olfato, desde los guisantes de Mendel hasta la secuenciación del Genoma Humano pasando por la doble hélice del ADN (Tabla 1)³.

Las leyes de la herencia habían sido descritas

por Gregorio Mendel en 1866 pero no fue hasta casi 100 años después que James Watson y Francis Crick publicaron en la revista *Nature* (1953) su famoso trabajo sobre la estructura en "doble hélice" del ADN por lo que recibieron el Nobel en 1962⁴. El descubrimiento por Arthur Kornberg de la polimerasa del ADN, la enzima encargada de la duplicación del ADN, le proporcionó el premio Nobel en 1959, premio compartido con Severo Ochoa por sus trabajos en la síntesis de los ácidos nucleicos. El descubrimiento por Howard Temin y David Baltimore de la transcriptasa inversa, la enzima que convierte las moléculas de ARN en moléculas de ADN complementario, base de la tecnología del ADN recombinante, fue premiado con el Nobel en 1975. Frederik Sanger recibió el premio en 1958 por sus trabajos en la secuenciación de proteínas y lo volvió a recibir en 1980, junto a Walter Gilbert y Paul Berg, por sus trabajos en la secuenciación del ADN. El descubrimiento del código genético, los 64 codones que determinan el paso de ARN mensajero a aminoácidos y a la formación de proteínas, proporcionó a Har Khorana y Marshall Nirenberg el premio Nobel de 1968. En 1983, Kary Mullis inventa la técnica de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que permite multiplicar un número mínimo de moléculas de ADN a cantidades detectables, por lo que recibió el Nobel en 1993.

En febrero de 2001 se publica, conjuntamente en las revistas *Science* y *Nature*, el fruto del trabajo de más de 10 años en la secuenciación del Genoma Humano realizado por dos grupos independientes, uno público e internacional liderado por los NIH americanos (Proyecto Genoma Humano), y uno privado liderado por Creig Venter (*Celera*

Genomics). Como fruto de este trabajo conocemos hoy en día el genoma no sólo del *Homo sapiens* (35.000 genes distribuidos en 23 cromosomas y constituido por 3.100 millones de pares de bases), sino también de otros seres vivos como la bacteria *Escherichia coli* (4.000 genes), la mosca *Drosophila melanogaster* (14.000 genes) o el gusano *C. elegans* (20.000 genes)^{3,5}.

Antes de los años 90, se conocía la localización de la mucosa olfatoria en el techo de las fosas nasales, sus pigmentos e incluso las células que la formaban (Figura 2). También se conocía la anatomía de las vías olfatorias y la localización de algunos centros olfatorios. Pero poco se sabía del mecanismo real por el que las moléculas olorosas se codificaban en impulsos nerviosos y como este paso era regulado. No obstante, en los años 80 se realizaron ciertos avances en el conocimiento de la fisiología del olfato que irían preparando el terreno: se obtuvo y almacenó ADN de mucosa olfatoria en bibliotecas de genes y se demostró que al estimular cultivos de células olfatorias aumentaba el AMP cíclico, un segundo mensajero que mediaba la estimulación de receptores adrenérgicos y colinérgicos ligados a proteína G.

Todos los descubrimientos citados anteriormente fueron necesarios para que a finales de los años 80 y en la *Columbia University* de Nueva York, Linda Buck y Richard Axel realizaran, empleando diferentes técnicas de biología molecular (PCR, enzimas de restricción, secuenciación de ADN, *northern blot*), una serie de brillantes experimentos con el objetivo final de descubrir el mecanismo del olfato. Primero, observaron que el ARN obtenido del epitelio olfativo de rata contenía una gran familia de genes que podían oscilar entre 70 y 200. Al comparar estos productos génicos con las bibliotecas de genes (*Genebank*) vieron que correspondían a genes (olfatorios). El segundo paso fue secuenciar las proteínas de algunos de estos genes. Como resultado obtuvieron una serie de proteínas con 7 dominios transmembrana (Figura 3), similares a otros receptores ya conocidos como los receptores adrenérgicos y colinérgicos. Observaron que en estas proteínas existía una gran variabilidad en la presencia de aminoácidos, sobre todo en los dominios 3, 4 y 5, lo cual podría explicar una enorme variabilidad de control génico. A continuación demostraron que la expresión de una mezcla de estos ARN mensajeros de genes olfatorios se producía sólo en células obtenidas de mucosa olfatoria pero no de cerebro, riñón, hígado, corazón, pulmón, ovario, retina o bazo. Así pues, una gran familia de

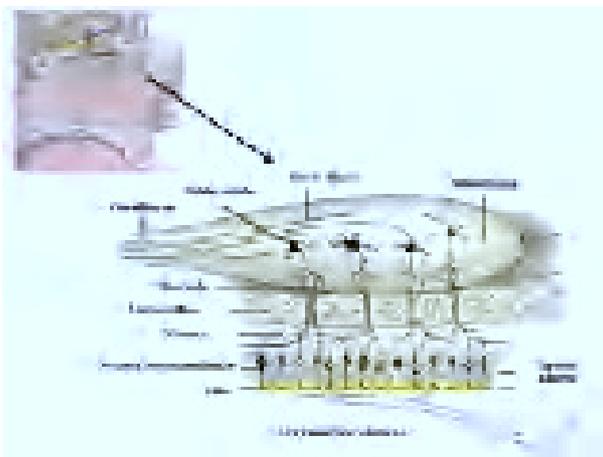


Figura 2. Estructura de la mucosa y bulbo olfatorios.

genes codificaba una amplia variedad de receptores del olfato, los cuales tenían una estructura 7-transmembrana y su activación produciría, como los otros de su tipo, una cascada de eventos intracelulares que empezaría con la activación de la proteína G y el aumento de los niveles de AMPc (por activación de la adenil-ciclasa) para llegar a producir una apertura de los canales iónicos y una activación de las neuronas olfatorias. Finalmente, este importante trabajo fue publicado en 1991 en el número de abril de la revista *Cell*¹.

A partir de entonces y durante los años 90, Linda Buck y Richard Axel siguieron investigando, aunque por separado y juntamente a otros investigadores, los mecanismos del olfato: el olfato estaba regulado por una superfamilia de más de 1.000 genes y las neuronas olfatorias expresaban sólo un tipo de receptor olfativo. Se estableció entonces la teoría denominada "de la llave y el candado" por la que cada receptor olfativo respondería sólo a una o unas pocas sustancias olfatorias. En 2001⁶, Zozulya y cols. publican un estudio en la revista *Genome Biology* en el que describen que aunque existen más de 1.000 genes sólo se expresan 347 proteínas receptoras del olfato. En 2003⁷, Gilad y cols. publican en *Proceedings of the National Academy of Science* (PNAS) que en el ser humano más del 60% de los genes del olfato no son funcionales (pseudogenes), a diferencia del perro o del ratón en los que el número de pseudogenes no supera el 20%.

Parecía lógico pensar que la Academia Sueca acabaría pues concediendo el premio Nobel a los estudios sobre los mecanismos del olfato, y en este campo Linda Buch y Richard Axel tenían las mayores posibilidades. Pero en 1996⁸, el investigador francés Luca Turin, que trabajaba en el *University College of London*, publicó un artículo en la revista *Chemical Senses* en el que presentaba una hipótesis "vibratoria" del olfato en contraposición a la teoría de la "forma" (molécula-receptor) oficial en el mundo científico. Su teoría estaba basada en ideas previas de Dyson (1938) y Wright (años 70) que establecían que el olfato se comportaría como un espectroscopio (similar a la vista o el oído) y en la que los receptores del olfato no responderían a la forma de la molécula olorosa sino a su vibración. Para ello realizó una serie de experimentos en los que exponía que dos sustancias de forma química muy similar pero de diferente vibración olían diferente y que dos sustancias de forma química diferente pero similar vibración olían igual. No obstante, la crítica

Receptor olfatorio transmembrana ligado a proteína G



Figura 3. Receptor olfatorio 7-transmembrana ligado a proteína G responsable de la percepción de las sensaciones olfativas.

principal era que este estudio se basaba en la experiencia personal, Luca Turin era un perfumista aficionado, pero sin demostrarse en voluntarios mediante un estudio aleatorio, doble ciego y controlado con placebo. La emisión por la BBC de un documental sobre el olfato y la teoría vibratoria y la publicación en 2002⁹ del libro de Chandler Burr *The Emperor of Scent* (El Emperador del Olfato) hizo más publicidad a Luca Turin, quien no había seguido investigando a fondo su hipótesis, que el trabajo y publicaciones científicas de numerosos investigadores del olfato. En abril de 2004¹⁰, dos investigadores de la *Rockefeller University de Nueva York*, A. Keller y L.B. Vosshall, publican en la revista *Nature Neurosciences* un estudio en el que investigan en varias docenas de voluntarios cada uno de los puntos de la hipótesis establecida por Turin y en el que concluyen que la hipótesis "vibratoria" no ha podido ser demostrada en la población general.

En realidad, sólo los miembros del Comité de la Academia Sueca saben la importancia o no que ha tenido la publicación del artículo de Keller y Vosshall para que el 4 de octubre pasado se hiciera pública la concesión del premio Nobel de Medicina o Fisiología del año 2004 a dos de los investigadores pioneros en el descubrimiento de la familia de genes que codifican los receptores olfatorios, Linda Buck y Richard Axel. No obstante, todavía queda mucho por andar en esta historia para poder contestar a numerosas preguntas como porqué somos capaces de oler 10.000 olores como menos de 400 receptores, porqué las células olfatorias se reproducen con facilidad mientras otras neuronas no lo hacen, o porqué oliendo un jersey de nuestro abuelo somos capaces de recordar una tarde de pesca y la felicidad que sentíamos en un verano remoto de cuando teníamos sólo ocho años.

REFERENCIAS

- 1.- Buck L, Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 1991; 65: 175-187.
- 2.- Vroon P. La seducción secreta. Psicología del olfato. Los 5 sentidos, Tusquets Editores, Barcelona: 1999.
- 3.- Watson JD. ADN. El secreto de la vida. Santillana Ediciones Generales SL, Madrid: 2003.
- 4.- Watson JD. La doble hélice. Biblioteca Científica, Salvat, Barcelona: 1987.
- 5.- Ridley M. Genoma. La autobiografía de una especie en 23 capítulos. Santillana Ediciones Generales SL, Madrid: 2001.
- 6.- Zozulya S, Echeverri F, Nguyen T. The human olfactory receptor repertoire. *Genome Biology* 2001; 2: 1-12.
- 7.- Gilad Y, Man O, Pääbo S, Lancet D. Human specific loss of olfactory receptor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 3324-3327.
- 8.- Turin L. A spectroscopic mechanism for primary olfactory reception. *Chem Senses* 1996; 21: 773-791.
- 9.- Burr C. El emperador del perfume. RBA, Barcelona, 2004.
- 10.- Keller A, Vosshall LB. A psychophysical test of the vibration theory of olfaction. *Nat Neurosci* 2004; 7: 337-338.