

## El Premio Nobel 1998: la resurrección de un gas inorgánico como una molécula de alta significación biológica

El Premio Nobel 1998 fue entregado a los Dres. Robert Furchgott, Louis Ignarro y Ferid Murad por el descubrimiento del óxido nítrico (NO), una pequeña molécula anfófila tan liposoluble y difusible como el oxígeno y que, por tener un electrón no apareado en su orbital externo, acuña su condición mágica de ser un radical libre del nitrógeno<sup>1</sup>. Esta condición determina una alta, aunque variable, reactividad con compuestos orgánicos y grupos funcionales como hemo y tioles y con otros radicales como el anión superóxido<sup>2</sup>. Esta propiedad y su difusibilidad apoyan su función como mensajero en la transmisión de señales entre células<sup>3</sup>. De este modo, el NO producido por células endoteliales, neuronas o células inflamatorias puede modular funciones en células adyacentes<sup>4</sup>.

El proceso de estudio del NO comenzó con el experimento sandwich de Furchgott, quien estudió la respuesta a la acetilcolina de segmentos vasculares con y sin endotelio<sup>5</sup>; al remover el endotelio la acetilcolina perdía su propiedad vasodilatadora y aun provocaba constricción arterial, lo que proponía la existencia de un factor de relajación endotelial o EDRF. En las largas conversaciones crepusculares en Colonia o Los Angeles que llevaron a la creación de la *Nitric Oxide Society*, Furchgott nos narró sus peripecias para publicar estos elegantes experimentos, lo que consiguió al cabo de varios intentos infructuosos en 1980. Su palabra es muy agradable, ya que se trata de un hombre cálido y sencillo, su talento no le impide tomar apuntes de casi todas las presentaciones en las reuniones científicas.

Posteriormente, por medio de estudios espectrales en reacciones del EDRF con la hemoglobina, Louis Ignarro confirmó que esta sustancia era capaz de generar metahemoglobina como el óxido nítrico y la identificó con este último<sup>6</sup>. Estudios similares y simultáneos realizados por el grupo de Salvador Moncada en Londres confirmaron estas experiencias por lo cual la mayoría de los investigadores en este tema pensamos que Moncada también merecía el Premio Nobel. Louis Ignarro es Profesor en el Departamento de Farmacología Molecular y Médica en la Escuela de Medicina de la Universidad de California Los Angeles (UCLA). Nacido en 1941 en el barrio de Brooklyn en Nueva York, Ignarro es una muestra del esfuerzo de un descendiente de italianos por acceder al sueño americano. Este hombre temperamental, conserva las características peninsulares como simpatía, afición por la música latina, culto a la amistad y amor por las pastas.

Finalmente, fue Ferid Murad, Profesor de Biología Integrada, Farmacología y Fisiología en la Escuela de Medicina de la Universidad de Texas, quien burbujeó NO gas en tejidos que contienen a la enzima GMP cíclico sintasa y observó el aumento consecutivo de las concentraciones de GMP cíclico<sup>8</sup>. El NO reacciona con el grupo prostético hemo de la enzima y la activa; el aumento de GMP cíclico produce un desplazamiento del Ca<sup>2+</sup> hacia el interior del retículo sarcoplásmico del músculo liso vascular y se produce relajación vascular y por ende, vasodilatación.

Curiosamente, las investigaciones de los Premios Nobel 1998 explican las propiedades de las drogas vasodilatadoras como la nitroglicerina descubierta como poderoso explosivo por Alfred Nobel e ingerida por él como medicamento antianginoso. El mismo Nobel escribió a un amigo: *"It sounds like the Fate of irony that I have been prescribed nitroglycerine internally. They have named it Trinitrin in order not to upset pharmacists and the public"*. La perspicacia médica se anticipó en muchos años al descubrimiento de los mecanismos de acción farmacológicos, tal como sucedió con muchas otras drogas. No

obstante, además de consolidar el conocimiento de las drogas vasodilatadoras de uso corriente, el descubrimiento del óxido nítrico permitió desarrollar nuevos recursos terapéuticos. La inhalación controlada de NO es corrientemente utilizada para tratar la hipertensión pulmonar de los niños con malformaciones cardíacas congénitas, lo que ha mejorado sus posibilidades quirúrgicas<sup>9</sup>. Asimismo, compuestos capaces de prolongar los efectos del NO son utilizados en la disfunción erectil del pene y en otras enfermedades vasculares. La utilización de inhibidores de las NO sintetas podría anular efectos tóxicos del NO *per se* o a través de sus productos de oxidación, como el anión peroxinitrito<sup>10</sup>.

Finalmente, nuevas perspectivas se abren al estudiar otros efectos del NO como aquellos ejercidos sobre el metabolismo oxidativo mitocondrial. Es destacable mencionar que el NO en concentraciones nanomolares inhibe a la citocromo oxidasa mitocondrial en forma reversible<sup>11,12</sup> y que estimula la producción de radicales libres del oxígeno como el anión superóxido<sup>12</sup>, que a su vez reacciona con el NO para generar peroxinitrito. En este sentido y considerando los efectos sobre la citocromo oxidasa, la síntesis mitocondrial de anión superóxido puede ejercer funciones regulatorias de la concentración de NO y del consumo de oxígeno mitocondrial y tisular<sup>13</sup>. La amplificación de este proceso por la presencia de elevadas concentraciones de NO en el estado estacionario conduce a la formación de un mayor tenor de peroxinitrito que actúa como un poderoso oxidante y conduce a la nitrosilación y nitración de proteínas y lípidos y consecuentemente daña las membranas celulares y mitocondriales<sup>14</sup>. Esta situación puede explicar algunos aspectos del efecto deletéreo de la sepsis o la endotoxemia que se acompañan de un aumento de la expresión y actividad de la óxido nítrico sintetasa inducible en diversos tejidos<sup>15</sup>. Por otro lado, el reciente descubrimiento de la existencia de una óxido nítrico sintasa mitocondrial<sup>16</sup> ha ampliado el campo regulatorio y patogénico del NO en las organelas generadoras de energía. Las mitocondrias como bacterias modificadas endosimbiontes con la célula procarionota para evolucionar hacia la célula eucariota que hoy conocemos, conservan algunas propiedades originales de su estado independiente. En efecto, las bacterias metabolizan el nitrógeno y producen y consumen óxido nítrico en el proceso de nitrificación-desnitrificación<sup>17</sup>.

Fue precisamente este hecho lo que nos llevó a interesarnos en el óxido nítrico; la aparición del NO le dio consistencia a trabajos publicados en años anteriores en esta revista, *Medicina*, en los que proponíamos un deterioro de la función mitocondrial en la sepsis<sup>18</sup> y una *guerra* mitocondria-bacteria como eje patogénico de la misma situación<sup>19</sup>. Hemos tenido la suerte de interesarnos por el tema precozmente y así, asistir y compartir la evolución y crecimiento del NO con unos pocos trabajos en 1987 hasta los miles que son publicados cada año en la actualidad. Los Premios Nobel 1998 han apoyado las investigaciones en la región latinoamericana y particularmente en Buenos Aires y Montevideo. El Prof. Ignarro ha estado en Buenos Aires donde nos anticipamos (por una vez) y se le reconoció sus méritos al designarlo Doctor Honoris Causa de la Universidad de Buenos Aires. Actualmente, colaboramos en la edición de su libro *Nitric Oxide* precisamente en el capítulo de la Regulación del Metabolismo Oxidativo por Oxido Nítrico.

El ejemplo de los premios Nobel 1998 es el de sumar instinto, perspicacia, conocimiento y personalidad, en torno a un tema al que todavía le faltan muchas aristas para comprenderlo en su totalidad. Pero por sobre todas las cosas, es destacable la preservación de su identidad. Estos Premios Nobel no sólo son expresión de una intelectualidad superior sino que ellos mismos transitan, cotidianos y humanos, un mundo de desafíos en una escala reproducible por nosotros y por cualquiera que tenga el placer de disfrutar del mundo del pensamiento.

*Juan José Poderoso*

Departamento de Medicina y Laboratorio de Metabolismo de Oxígeno,  
Hospital de Clínicas José de San Martín,  
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

1. Fukuto J. Chemistry of nitric oxide: biologically relevant aspects. In: Ignarro L, Murad F, Nitric Oxide, San Diego: Academic Press, 1995, p. 1-13.
2. Beckman JS. Ischemic injury mediator. *Nature* 1990; 345: 27-28.
3. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 175.
4. Adams DO, Hamilton TA. The cell biology of macrophage activation. *Annu Rev Immunol* 1984; 2: 283-318.
5. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
6. Ignarro L, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84: 9265-9.
7. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524-6.
8. Arnold WP, Mittal CK, Katsubi S, Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3', 5' -monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci* 1977; 74: 3203-7.
9. Zapol WM, Rimar S, Gillis M, Marletta M, Bosken CH. NHLBI workshop summary-nitric oxide and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1375-80.
10. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1991; 288: 481-7.
11. Cleeter MWJ, Cooper JM, Darley-Usmar VM, Moncada S, Schapira AHV. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. *FEBS Lett* 1994; 345: 50-4.
12. Poderoso JJ, Carreras MC, Lisdero C, Riobó N, Schöpfer F, Boveris A. Nitric oxide inhibits electron transfer and increases superoxide radical production in rat heart mitochondria and submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys* 1996; 328: 85-92.
13. Poderoso JJ, Peralta J, Lisdero C, Carreras MC, Radisic M, Schöpfer F, Cadenas E, Boveris A. Nitric oxide regulates oxygen uptake and hydrogen peroxide release by the isolated beating rat heart. *Am J Physiol* 1998; 274: 112-9.
14. Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys* 1996; 309-16.
15. Boczkowski J, Lanone S, Ungureanu-Longrois D, Danialou G, Fournier T, Aubier M. Induction of diaphragmatic nitric oxide synthase after endotoxin administration in rats. *J Clin Invest* 1996; 98: 1550-9.
16. Giulivi C, Poderoso JJ, Boveris A. Production of nitric oxide by mitochondria. *J Biol Chem* 1998; 273: 11038-43.
17. Goretski J, Zafiriou CC, Hollocher TC. Steady-state nitric oxide concentrations during denitrification. *J Biol Chem* 1990; 265: 11535-8.
18. Poderoso JJ, Boveris A, Gherardi CR, Capriale AW, Turrens J, Stoppani AOM. Función mitocondrial en el shock séptico. *Medicina (Buenos Aires)* 1978; 38: 371-5.
19. Poderoso JJ. Algunos aspectos en torno del shock séptico. *Medicina (Buenos Aires)* 1982; 42: 448-50.

-----

*In the past, most scientists were poorly paid; only few became famous and even fewer rich. One of the characters in Fred Hoyle's novel The Black Cloud remarks that scientists are always wrong, yet they go on. What makes them continue? Often it is addiction to puzzle-solving and ambition to be recognised by their peers.*

En el pasado, la mayoría de los investigadores eran mal pagos; solamente algunos pocos se hacían famosos, menos todavía, ricos. Uno de los protagonistas de la novela de Fred Hole *The Black Cloud* comenta que los investigadores están siempre equivocados, y sin embargo, siguen adelante. ¿Qué es lo que les hace seguir? A menudo se trata de una adicción a resolver rompecabezas y la ambición de ser reconocidos por sus pares.

Max Perutz

*I wish I'd made you angry earlier. Essays on Science and Scientists.* Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor laboratory Press, 1998, p X