







# **CÈL·LULA, OXIGEN I MITOCONDRI:**

**UNA RELACIÓ EN RISC PER L'EFECTE  
TÒXIC DEL FUM DEL TABAC**







**REIAL ACADÈMIA DE MEDICINA DE CATALUNYA**

**CÈL·LULA, OXIGEN I MITOCONDRI:**

**UNA RELACIÓ EN RISC PER L'EFECTE  
TÒXIC DEL FUM DEL TABAC**

Discurs d'ingrés llegit per l'Acadèmic Electe

**FRANCESC CARDELLACH i LÓPEZ**

el dia 27 de Novembre de 2011

Discurs de resposta de l'Acadèmic Numerari

**CIRIL ROZMAN i BORSTNAR**

Barcelona  
2011



© *Francesc Cardellach i López*  
© *Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya*

*Edita:* Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya  
Carrer del Carme, 47  
08001-Barcelona  
Telèfon: 93. 317. 16. 86  
E-mail: [secretaria@ramc.cat](mailto:secretaria@ramc.cat)  
Web: [www.ramc.cat](http://www.ramc.cat)

*Disseny gràfic i compaginació:* Joan Pujol i Ros

*Producció:* MRR. Barcelona.

*Dipòsit legal:* B-00.000-2011  
*I.S.B.N.:* 978-84-???-????-?



Discurs d'ingrés llegit per l'Acadèmic Electe

FRANCESC CARDELLACH i LÓPEZ







Excel·lentíssim Sr. President,

Digníssimes autoritats,

Molt il·lustres senyores i senyors acadèmics,

Distingits companys i amics,

Senyores i senyors,

En primer lloc voldria agrair-los la seva presència avui en aquest solemne acte de lectura del discurs que m'hauria de permetre l'ingrés com a Acadèmic Numerari d'aquesta il·lustre Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya. En segon lloc, els voldria agrair el suport i la confiança que vostès, il·lustres membres de la Reial Acadèmia, van dipositar en la meva persona com a candidat a ocupar un lloc en la Secció de Medicina. Sempre he sentit una gran admiració i respecte a l'entrar a aquesta sala. A alguns de vostès els conec poc personalment, malgrat que sé de la seva categoria personal i professional; a molts, però, els conec força bé perquè uns han estat o són companys i d'altres, no pas pocs, han estat mestres meus i han marcat, d'una manera o altra, la meva trajectòria professional i fins i tot personal. Aquesta trajectòria l'he desenvolupada íntegrament, d'una manera o altra, a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona i a l'Hospital Clínic, pràcticament de forma simultània al llarg de gairebé 42 anys. Així, ha estat un veritable plaer haver tingut de mestres professors de la categoria de Ciril Rozman (a qui tornaré a referir-me d'aquí a uns moments), Soledad Woessner, Jacint Corbella, Miguel Ángel Asenjo, Carles Ballús, Antonio Cardesa, Manuel Cruz, Jesús González Merlo, Miguel Ángel Nalda, Lluís Revert, Domingo Ruano i Josep Trasserra. He compartit moltes hores de treball professional amb altres professors com Josep Antoni Bombí, Ramon Brugada, Josep Carreras, Josep Esteve, Xavier Forn, Màrius Foz, Josep M<sup>a</sup> Mascaró, Jordi Vives, Joan Rodés, Lluís Salleras, Ramon Segura, Miquel Vilardell i Joan Viñas, amb els

quals he tingut ocasió de col·laborar en diferents activitats i tots ells m'han demostrat la seva amistat al llarg del temps. I, finalment, també voldria recordar persones que ja no hi són però que tindrè sempre en el meu cor per la influència que han tingut en mi, com els doctors Jordi Sans i Antoni Tejedo. Per tant, tenir l'oportunitat de compartir aquest solemne espai amb tots vostès m'omple d'orgull i satisfacció, a la vegada que sento com un gran honor haver-me elegit i acceptat per formar part d'aquesta Acadèmia com a membre numerari. Des de d'aquest moment em comprometo a treballar conjuntament amb tots vostès esperant no defraudar-los.

Abans de procedir al meu discurs, vull fer esment a la figura del Dr. Miquel Torner i Soler, Acadèmic Numerari d'aquesta RAMC i cardiòleg eminent, que per raons dels estatuts de la institució promou a Acadèmic Emèrit i que em pertoca ocupar la plaça que deixa vacant. El Dr. Miquel Torner va nèixer a Barcelona l'any 1922 i es llicencià a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona l'any 1947. Ben aviat es va sentir atret per la Cardiologia, especialitat en la que es va formar al costat del Prof. Gibert Queraltó, a l'Hospital Clínic de Barcelona. Els seus inicis com a postgraduat coincideixen amb el desenvolupament del cateterisme cardíac i l'angiocardiografia. També, molt ràpidament, adquireix experiència en l'electrocardiograma endocavitari. Tot plegat fa que ell, al capdavant del seu grup, agafi la responsabilitat de l'Escola de Cardioangiologia de la UB i de l'Escola Catalana i aconsegueixi un gran prestigi nacional i internacional, especialment pel que fa a les cardiopaties congènites. El Dr. Miquel Torner es va revelar com un gran clínic i un autèntic mestre, impulsor de la Cardiologia moderna i de la cirurgia cardíaca infantil, amb la incorporació al seu entorn de cirurgians de gran projecció. Resultat de tota aquesta activitat fou la publicació de diversos treballs en revistes de gran prestigi de parla anglosaxona en el món de l'especialitat, a més a més de nombrosos llibres. L'any 1958 obrí el primer consultori de Cardiologia Pediàtrica del país i també va mostrar una gran activitat al si de les societats científiques de l'especialitat. Fou professor associat dels Departaments de Medicina i de Pediatria de la Universitat Autònoma de Barcelona i fundador de l'Associació Catalana d'ajut a la Cardiologia, entre altres càrrecs en societats i associacions relacionades amb la cardiologia. En el seu discurs d'ingrés a la RAMC el 14 de novembre de 1993, amb el títol "L'evolució de la Cardiologia en els últims 45 anys", el Dr. Miquel Torner exposà els aspectes essencials sobre els que es produí l'expansió de l'especialitat, qüestions que

veritablement conegué en primera persona i col·laborà a desenvolupar, en paraules del Professor Joaquín Tornos Solano en el seu discurs de benvinguda. Avui, 18 anys després del seu ingrés a la RAMC, coincidint amb l'any del seu 89è aniversari i el seu accés a la consideració d'Acadèmic Emèrit, espero tenir l'honor de merèixer ocupar el seu lloc en aquesta il·lustre institució.

Voldria ara referir-me, breument, el paper fonamental que, sense cap tipus de dubte, ha tingut en la meva trajectòria personal i professional la meva família. En primer lloc els meus pares, que amb el seu esforç en èpoques complicades van ser capaços de sacrificar molt de la seva part per poder donar als seus fills l'educació que ens ha permès desenvolupar-nos com a persones i també professionalment. A la Bego li reconec el mèrit, malgrat les dificultats, d'haver-me fet costat en tot allò que ha calgut per facilitar la meva dedicació, gairebé exclusiva, a aquesta professió tan immensament aclaparadora i absorbidora com és la Medicina en tots els seus àmbits: assistencial, docent, investigador i acadèmic. I no només això, sinó que ha desenvolupat (i desenvolupa) la seva funció com a mare (i des de fa molt poc, d'àvia també) amb una dedicació i eficiència dignes d'elogi. A les meves filles, Marta, Núria i Estela no puc tampoc estar-los prou agraït. A part de l'orgull que representa la presència de totes tres a la meua vida, no només no han representat mai cap element de distorsió o distracció a la tasca professional que els he mencionat fa un moment, sinó que el seu impecable comportament en tots els àmbits, sempre, des de sempre, han permès que hagi pogut acumular, sembla, suficient contingut com perquè hagi merescut la confiança d'aquesta Acadèmia i que per tant avui pugui ser davant de vostès. Elles saben molt bé que si no hagués estat així ara mateix jo no estaria en aquesta sala. Elles saben molt bé com d'orgullós em sento de totes tres, de la seva maduresa, del seu comportament; per a mi han estat i són un model perfecte de filles. A elles i a les seves parelles, amb els seus fills, els meus nets, els hi desitjo per sempre senzillament salut i sort. Ja sé que això, que sembla poc, és també demanar molt, però per demanar no me n'estaré pas.

Tal i com ja els he dit abans, voldria fer un esment molt especial d'algunes persones que han influït d'una manera molt acusada en la meua trajectòria professional. I en primer lloc, vull específicament referir-me al meu mestre, el Prof. Ciril Rozman, qui amb la seva iniciativa, suport constant i confiança ha

estat l'impulsor de la meua candidatura. Parlar del Professor Ciril Rozman per a mi és parlar-ne a la vegada com a alumne, deixeble i col·laborador. Efectivament, la meua relació amb el Professor Rozman ve ja de molt lluny, doncs vaig començar Medicina l'any 1969, per tant fa 42 anys, i ja en aquell primer curs vaig poder incorporar-me com alumne intern a la llavors Escola d'Hematologia Farreras-Valentí de la Clínica Mèdica C de l'Hospital Clínic de Barcelona (HCB). Allà vaig conèixer persones entranyables, com els Drs. Vives-Corróns, Evarist Feliu, Jordi Sans, Joan García San-Miguel i la Dra. Soledad Woessner. L'admirada Soledad Woessner, més coneguda entre nosaltres com, senzillament, la Doctora. Un pes pesant i molt respectat de l'Hematologia i de l'Escola, que al seu costat (i de la doctora Núria Pujol) vaig passar moltes hores escoltant les seves observacions i lectures al microscopi d'aspectes citològics de l'hemograma i del moll de l'os, jo assegut al costat (o al davant, amb l'altre ull de l'aparell) prest per apuntar, paper i llapis (res d'ordinadors encara), tot allò que fes falta i disposat a complir qualsevol ordre que sortís de la seva tranquil·la (però ferma) veu. Ho recordo com una experiència inoblidable i altament enriquidora que m'ha permès acumular en el meu exercici professional d'internista un cert i molt útil avantatge en saber llegir, entendre i interpretar moltes qüestions que difícilment hagués pogut afrontar de la mateixa manera si no hagués gaudit d'aquest mestratge.

En aquells anys l'Escola d'Hematologia ja era una institució de molta empena i prestigi, al capdavant de la qual hi havia el professor Rozman, catedràtic de Patologia Clínica Mèdiques. Allà el vaig conèixer doncs l'any 1969 (encara recordo la seva salutació de benvinguda quan li vaig ser presentat, un dia qualsevol, al bell mig del passadís). Allà vaig tenir els primers contactes amb una persona amb la que ja, des del primer moment, i fins ara, m'ha estès sempre la mà amb un tracte afable i assequible, a la vegada que sever; allà també, des del primer moment, em vaig adonar que estava davant d'una persona amb una categoria professional poc comú i que més endavant vaig poder comprovar en ser un exemple d'excel·lència en tots i cadascun dels tres àmbits que ell sempre ha reivindicat per al metge i professor universitari: docent, investigador i assistencial. Llavors el professor Rozman tenia tot just 40 anys. Amb ell, d'ell, vaig aprendre molts dels seus costums (alguns gairebé malaltissos, però que m'enorgulleixo de compartir probablement amb el mateix grau "d'anomalia") com arribar molt d'hora a l'hospital, la puntualitat, el rigor en qualsevol activitat,

la necessitat d'escriure bé, la importància de l'estudi, l'immens valor del temps, la grandesa del treball continuat, la vocació per la medicina interna i el concepte del trinomi assistència, docència i recerca. En definitiva, tenir la capacitat d'incorporar un alt grau d'autoexigència en tot allò que un metge i universitari hauria de poder ser capaç de desenvolupar.

Va ser l'any 1971, al cap de dos anys, que vaig passar a la sala d'hospitalització de la Clínica Mèdica C i vaig tenir l'oportunitat de practicar l'assistència als pacients al costat del doctor Álvaro Urbano Márquez, estret col·laborador del professor Ciril Rozman que aquest va portar amb ell quan es va traslladar de Salamanca a Barcelona, i que posteriorment fou el meu cap de servei durant moltíssims anys. A partir d'aquest moment doncs, i poc després com a alumne intern per oposició, vaig poder gaudir de la gran categoria professional del professor Rozman com a internista (malgrat que mai ha amagat una atracció molt especial per l'Hematologia) i, al mateix temps, de les seves classes magistrals, avui tan aporrinades. Així, durant uns altres tres anys que van ser una absoluta meravella, vaig gaudir de la seva constant presència i mestratge. Posteriorment, ja com a metge Resident i Adjunt, la relació amb el professor Ciril Rozman internista s'ha desenvolupat al llarg de molts anys, fins ara, malgrat que ell estava ja més introduït en l'àmbit d'Hematologia i jo de la Medicina Interna. El seu exemple de com practicar una medicina integral, defensada aferrissadament durant tota la seva trajectòria professional (i encara actualment), ha estat per sempre més des de llavors un referent obligat i un objectiu personal que he intentat complir de la millor manera que he estat capaç.

Per altra banda, al llarg de la meua vida professional també he pogut col·laborar amb el professor Rozman en diversos projectes, alguns molt estimats per ell mateix com la seva principal obra, el llibre de text "Farreras-Rozman Medicina Interna", o en la Revista Medicina Clínica, de la que fou Director fins a l'any 2000 i que després en prengué la responsabilitat amb tant d'encert el professor i estimat amic el professor Miquel Vilardell. Per tant, per a mi constitueix un veritable honor haver rebut aquest grau de confiança per part del meu mestre i poder tenir l'oportunitat de ser, encara actualment, treballant al costat d'una figura d'aquesta categoria. I per tot això, i pel que ell sempre ha significat per a mi com a referent en tota la meua trajectòria professional i personal, vull aprofitar

aquest acte d'avui per donar-li, una vegada més, i confio que moltes més en el futur, molt sincerament les gràcies.

Voldria fer també un reconeixement molt especial als meus companys de l'Hospital Clínic de Barcelona, tant del servei de Medicina Interna com dels altres serveis de la institució. En primer lloc, al Prof. Miguel Asenjo, a qui vaig tenir l'honor de conèixer com a Director de l'HCB, i merèixer el seu suport, durant tota la meva vida professional. També, als companys del servei de Medicina Interna de l'Hospital Clínic, que ha estat el meu lloc de desenvolupament professional des de l'any 1976 que vaig incorporar-m'hi de metge resident i a partir del 1979 com a metge adjunt. Per tant, he de fer un esment molt particular de tots els companys i companyes que he tingut i tinc allà, doncs de cadascun d'ells he après moltíssim tant en l'àmbit professional com també en el personal. El meu més sentit agraïment a tots, sense oblidar als estimats companys que ja no hi són, alguns d'ells traspassats prematurament.

I, com no pot ser d'altra manera, també voldria dirigir unes paraules d'agraïment als companys i companyes de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona. Seria massa agosarat intentar esmentar individualment cadascun d'ells pel risc d'oblidar-me'n d'algun, doncs la llista és realment llarga; a més a més, molts ja els he citat abans i d'altres també són presents avui en aquest acte. Això sí, he de reconèixer que, majoritàriament, sempre m'han fet confiança en molts aspectes i, gràcies a aquesta confiança i exemple de la seva part, he pogut progressar en l'àmbit universitari. Però el suport més preuat de tots ha estat el que m'ha permès gaudir del càrrec de Degà des de l'any 2008 i que agraeixo profundament ja que em permet servir a una institució de gran prestigi i projecció, a la vegada que amb un alt grau de compromís amb la societat. En definitiva, la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona, la meva estimada Universitat, ha estat des de molt aviat l'*alter ego* que defineix la meva persona i trajectòria en l'àmbit professional. Sempre he sentit i he viscut aquesta doble personalitat, hospitalària i universitària, absolutament incorporades totes dues com a sentiments indestriables que han guiat i marcat la meva tasca diària. Una doble i necessària personalitat, les dues cares d'una mateixa moneda, que m'ha permès defensar en molts àmbits, i amb molt d'orgull, com a "marca" inseparable de qualsevol professor universitari de l'àmbit clínic. Gairebé he reivindicat l'existència d'un

gen d'aquesta dualitat. Aquesta doble pertinença, perfectament compatible, m'ha estalviat canvis cruels de personalitat que a vegades, per sort poques, es pot observar en algunes ocasions i que tan mal poden fer a aquesta necessària simbiosi entre les institucions sanitàries i les universitàries.

Abans de passar a presentar-los el meu discurs, en aquests agraïments també voldria esmentar el suport i col·laboració que he pogut gaudir dels meus companys i companyes del Laboratori de Funcionalisme Mitocondrial de l'IDIBAPS, dins del Grup de Recerca Muscular que dirigeix el professor Josep M<sup>a</sup> Grau i on, una vegada més, el professor Rozman va tenir un paper fonamental en la seva creació i desenvolupament. Sense l'aportació constant i diària del personal investigador del Laboratori és ben clar que la meva tasca de recerca s'hagués vist greument compromesa i que el treball que constitueix el meu discurs d'avui no hauria pogut ser possible. Per tant, vull agrair especialment la tasca dels doctors Òscar Miró i Antoni Barrientos, la doctoranda Constanza Morén i la tècnica de Laboratori Ester Tobías. Però, molt especialment, vull fer palès el meu agraïment i admiració per la labor que du a terme la doctora Glòria Garrabou, ànima i empenta del laboratori, model d'investigadora i d'exemplar comportament tant des del punt de vista professional com a persona íntegra i disposada sempre a col·laborar. En aquest cas, el seu ajut i col·laboració s'han estès també, per la seva sòlida formació com a biòloga, en la revisió crítica del meu discurs. Finalment, aquí voldria també agrair tot l'aprenentatge i suport que he rebut per part dels professors Emanuel Rubin i Jan Hoek, del Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica de la Universitat Thomas Jefferson, de Filadèlfia, USA, on vaig desenvolupar una estada l'any 1987. La meva formació com a investigador en el camp de la patologia mitocondrial la dec a ells, que em van acollir al seu Laboratori i que des de llavors hem mantingut una estreta relació professional i també personal.

Permetin-me que passi ara pròpiament al meu discurs d'ingrés.





## **CÈL·LULA, OXIGEN I MITOCONDRI: UNA RELACIÓ EN RISC PER L'EFECTE TÒXIC DEL FUM DEL TABAC**

La meua recerca, des de l'any 1986, té com a objectiu la patologia mitocondrial, tant primària com secundària, i l'he portat a terme al si del Grup d'Investigació Muscular amb el suport del CIBER en Malalties Rares. El discurs que avui els voldria llegir tracta de l'efecte tòxic del fum del tabac i el paper que podria tenir sobre el mitocondri en el desenvolupament d'aquest efecte. Aquest treball resumeix bona part de l'activitat investigadora que he portat a terme els darrers 15 anys, i que majoritàriament s'ha desenvolupat en l'àmbit de la patologia mitocondrial secundària.<sup>1-5</sup> Segurament poden preguntar-se, no sense raó, com un internista convençut pot haver derivat cap a aquest camp aparentment tant de l'àmbit bàsic. Però permetin-me que els asseguri que aquesta dedicació a un aspecte tan particular no és contradictori amb el sentiment que abans he defensat com a internista. Tot al contrari, precisament aquesta especial dedicació respon a la necessitat, també clàssicament defensada pel professor Rozman, de complementar l'exercici de la tasca professional amb l'aprofundiment en algun aspecte de la medicina.<sup>6</sup> Si això és quelcom important per a qualsevol metge subespecialista i professor universitari, en el cas de l'internista es converteix en una realitat absolutament imprescindible. Ara bé, sempre he procurat donar a aquesta recerca un sentit traslacional, doncs és el fonament d'una veritable recerca en l'àmbit de la biomedicina, qüestió que ha estat àmpliament i molt encertadament defensada per l'il·lustre acadèmic professor Joan Rodés.<sup>7</sup>

Les malalties són la conseqüència de les alteracions que pateixen les nostres cèl·lules i per entendre millor aquest final, la malaltia, cal conèixer molt bé quina

és la base des del principi. Així doncs, per portar a terme l'exposició del treball que els presentaré des d'una vessant traslacional, he considerat oportú, primer, contextualitzar d'alguna manera el fonament biològic per on es mou la meva recerca per, després, traslladar els resultats a la clínica.

I per desenvolupar-ho d'aquesta manera, vaig decidir utilitzar molts paràgrafs de la meravellosa descripció que Bill Bryson<sup>8</sup> fa de molts aspectes de la vida en el seu llibre "*Una breu historia de casi todo*". La meva intenció ha estat que la combinació d'aspectes descrits amb un tarannà novel·lesc, però amb una base sense cap dubte sustentada d'un gran rigor científic, em permeti exposar-los els resultats de la meva recerca sobre la toxicitat del fum del tabac a través de la lesió mitocondrial i les seves possibles repercussions. Veuran que aquest relat té quatre protagonistes principals: els tres primers són l'oxigen, la cèl·lula i el mitocondri, i em permetran que m'hi estengui en una descripció detallada per tal de poder explicar d'una manera raonada el paper del quart i últim protagonista, el fum del tabac i, més concretament, el monòxid de carboni que conté.

## 1. LA CÈL·LULA I L'OXIGEN

Òbviament jo no soc qui per fer-los una exposició científica del què ha significat la relació entre la cèl·lula i l'oxigen, doncs la meva formació en aquest àmbit no em permetria fer-ho de la manera prou detallada i precisa que una audiència com la d'avui es mereixeria. Però sí que m'agradaria comentar-los alguns aspectes generals tant de l'un com de l'altra, doncs em serviran per poder exposar-los millor el mecanisme de la toxicitat del fum del tabac i les seves conseqüències, en base als resultats de l'estudi que els presentaré. Per tot plegat m'ha semblat adient tractar, en aquest començament, de l'especial i estreta relació de l'oxigen amb la cèl·lula, dos dels protagonistes del meu discurs que els hi he avançat fa uns moments.

Les primeres cèl·lules que varen poblar la Terra fa uns 3500 milions d'anys eren uns organismes procariotes, anomenats arqueobacteris, que no disposaven de nucli cel·lular i pels quals l'oxigen molecular (en cas d'haver existit, doncs llavors no n'hi havia de lliure) era tòxic. Algunes d'aquestes formes de vida, que

competien pels pocs recursos tròfics disponibles i presentaven una gran capacitat d'adaptació al medi, van evolucionar per tal de poder aprofitar el CO<sub>2</sub> atmosfèric, doncs, com he dit, encara no existia oxigen molecular en quantitat suficient. En aquest context d'anaerobiosi, la vida vegetal fou evolucionant i, gràcies al que coneixem avui en dia com a fotosíntesi, de manera gradual començà a acumular-se oxigen a l'atmosfera. Però només els organismes que aconseguissin tolerar aquest oxigen sobreviurien amb èxit, o bé, en cas contrari, haurien de sobreviure, per sempre més, confinats en espais de vida sense aquest gas.

Fins aquest moment, un període de més de 2000 milions d'anys, els organismes unicel·lulars procariotes van ser els únics que poblaren la Terra. Però un temps després, fa uns 1400 milions d'anys, apareix la cèl·lula eucariota, una nova forma de vida que disposa de nucli i d'un citoplasma especialitzat i organitzat en forma de cossos denominats "orgànuls" (en grec, petits instruments). I va caldre tot aquest temps perquè la cèl·lula eucariota evolucionés i aprengué a sumar esforços, fins que s'estructuraren en formes de vida pluricel·lulars. Es creu que el procés s'inicià quan algun bacteri equivocat o aventurer n'envaià un altre o bé fou capturat per ell, i sembla ser que probablement això els va anar bé a tots dos. Una de les necessitats que la nova cèl·lula eucariota havia de cobrir era l'ús de l'oxigen, que en aquells moments abundava a l'atmosfera i, per fer-ho, es creu que va absorbir un endosimbiont capaç d'emprar aquest oxigen. El bacteri captiu (l'endosimbiont absorbit) és el que s'hauria convertit en un mitocondri. Aquesta invasió mitocondríca (o esdeveniment endosimbiòtic, com denominen els biòlegs) possibilità la vida complexa (de fet, una invasió similar fou la que produïren els cloroplasts en les plantes, que les permeten fotosintetitzar). Aquesta "endosimbiosi" doncs, és a dir, la incorporació d'un organisme en un altre, fou el mecanisme a través del qual aquestes cèl·lules procariotes primitives varen associar-se entre si per formar una unitat resultant adaptada a les noves necessitats. I, el més important, d'aquesta unió en treien benefici mutu tots dos socis implicats.

És una obvietat que sense oxigen la vida seria una altra cosa, si més no pel que fa a l'espècie humana, entre moltes altres espècies. Probablement res, o molt poc, del que avui som i veiem sobre la terra, pel que fa a la vida, no seria igual sense oxigen. De fet, com a mínim no seríem l'espècie humana tal i com

l'entenem avui dia. Per tant, de ben segur que gràcies a l'oxigen som el que som. Però també, precisament per això, en depenem del tot. Per fer-nos una idea d'aquesta absoluta dependència i del paper de l'oxigen, Bill Bryson, en el seu capítol de l'aparició de la vida, explica que calgueren uns dos mil milions d'anys, aproximadament un 40% de la història de la Terra. Fou necessari tot aquest temps per aconseguir que els nivells d'oxigen arribessin més o menys als nivells moderns de la seva concentració a l'atmosfera, que com és conegut consisteix en una capa d'uns 190 km que rodeja la terra. És un fet que necessitem l'oxigen. I sembla que n'hi hagi molt, però en realitat tampoc n'hi ha tant. Per fer-nos una idea de la quantitat, per exemple, només cal imaginar-nos la terra de la grandària d'un globus terraquí de taula. En aquest model imaginari, però sobre el paper totalment fàcil de construir segons un càlcul de les proporcions, l'atmosfera (aquests 190 km) només tindria el gruix d'un parell de capes de vernís. I si a més a més tenim en compte que l'atmosfera està formada per 4 capes diferents (troposfera, estratosfera, mesosfera i ionosfera), la primera, la troposfera, la més propera a la terra, és la que conté l'oxigen ("tan sols" en un 21%) i només té entre 11 i 16 km de gruix.

Aquest tipus nou de cèl·lula rep el nom d'eucariota,<sup>9</sup> que en grec significa "veritablement nucleada", a diferència del tipus anterior a la simbiosi, que avui dia continuen existint, que es coneixen com a procariotes (prenucleades). Les eucariotes acostumen a ser cèl·lules més grans (fins a deu mil vegades més) i poden contenir fins a mil vegades més de DNA. De forma gradual, des de la seva aparició (i gràcies a aquests avenços), la vida es va anar fent més complexa i es van crear dos tipus d'organismes: els que desprenen oxigen (com les plantes) i els que n'absorbeixen o consumeixen (com els animals). Per tant, la cèl·lula eucariota animal, com la del ser humà, té un objectiu gairebé malaltís: consumir oxigen. Sense oxigen, la cèl·lula no pot viure i, en conseqüència, tot allò que interfereixi en la seva utilització pot comportar-li problemes.

En aquest context individualitzat d'aquell moment de l'evolució de la vida, al final, les cèl·lules eucariotes van aprendre un truc encara més singular. Els hi va costar molt de temps (uns 1000 milions d'anys), però valgué la pena: van aprendre a agrupar-se en éssers pluricel·lulars complexos. Nosaltres, els humans, som el resultat d'un d'aquests trucs, un conjunt de cèl·lules eucariotes disposades de tal forma que s'han especialitzat en òrgans i sistemes.

I ara m'agradaria exposar, breument, algunes característiques que defineixen la meravellosa màquina perfecte que és la cèl·lula, però que, al mateix temps, i per la seva complexitat, es troba constantment en risc. I ho faré de nou seguint l'apassionant llibre de Bryson. Segons aquest autor, sorprenentment, si poguéssim visitar una cèl·lula així de perfecte, gairebé segur que no ens agradaria el seu aspecte interior. Si l'infléssim fins a una escala en que els àtoms fossin de la grandària aproximada de pèsols, i de nou aplicant uns coeficients proporcionals, una cèl·lula seria una esfera d'uns 800 metres de diàmetre, sostinguda per un complex entramat de bigues anomenat citoesquelet. Dins d'aquesta cèl·lula s'hi desplacen d'una banda a l'altra, com bales, milions d'objectes, alguns de la grandària de pilotes, altres com cotxes, milers de vegades per segon en totes direccions. L'interior de la cèl·lula és aparentment una bogeria, un caos (evidentment no és pas així), però sí que constitueix un lloc perillós fins i tot per als seus ocupants habituals. Cada filament de DNA és atacat o lesionat un cop cada 8,4 segons (10 000 vegades al dia) per substàncies químiques o altres agents que el colpegen o el travessen despreocupadament, i cada una d'aquestes ferides s'ha de suturar ràpidament per tal que la cèl·lula no mori o pateixi danys irreversibles i de conseqüències no sempre predictibles.

En aquest entorn imaginari, però a la vegada presentat amb un gran rigor científic per Bill Bryson, les proteïnes giren, palpiten i volen unes en altres fins a mil milions de vegades per segon. Els enzims corren d'una banda a l'altra, fent mil tasques per segon. Construeixen i reconstrueixen diligentment molècules, com formigues obreres molt accelerades, traient una peça d'aquí, posant-ne una altra allà. Algunes controlen les proteïnes que passen i marquen amb una substància química les que estan danyades de forma irreversible o han quedat defectuoses. Un cop seleccionades, són portades al proteosoma, on són desballestades i els seus components s'aprofiten de nou. Algunes proteïnes tenen mitja hora de vida, altres algunes setmanes. Però això sí, tot succeeix a una gran velocitat i d'una manera molt precisa.

En canvi, si tot això ho mirem a velocitat lenta, les coses segurament es poden entendre millor i es veuria clarament que són milions d'objectes que xoquen amb altres milions d'objectes i que porten a terme tasques rutinàries: extracció d'energia a partir de nutrients, muntatge d'estructures, eliminació de deixalles,

rebuig d'intrusos, rebent i enviant missatges, fent reparacions, etc. Una sola cèl·lula de cada aparell o sistema acostuma a tenir com a mínim uns 20 000 tipus diferents de proteïnes, amb un total d'uns 100 milions de molècules en cada cèl·lula. Això dóna idea de la immensa quantitat d'activitats bioquímiques que succeeixen dins de nosaltres. Activitats totes elles absolutament programades; és a dir, dins la cèl·lula cadascú sap què ha de fer, com ho ha de fer i quan ho ha de fer.

I totes aquestes cèl·lules són un conjunt tremendament exigent, doncs necessiten d'una manera continuada (unes més que d'altres) energia per mantenir aquestes activitats en un perfecte funcionament. I aquests són dos aspectes clau que defineixen l'activitat cel·lular: "funcionament correcte" i "energia", doncs totes i cadascuna de les cèl·lules estan altament especialitzades i cada reacció, cada procés, s'ha de desenvolupar d'una única manera i només d'aquesta manera (en temps, lloc, quantitat i intensitat), enfront d'una determinada situació. Però, a la vegada, les cèl·lules han d'estar preparades per adequar-se a situacions noves, és a dir, han de tenir capacitat d'adaptació i tots aquests processos funcionals i adaptatius consumeixen enormes quantitats d'energia. Només un exemple del què pot representar aquesta capacitat d'adaptació: per mantenir les cèl·lules ben oxigenades, el cor ha de bombejar 343 litres de sang cada hora, uns 8000 litres al dia, 3 milions de litres a l'any (suficient per omplir quatre piscines olímpiques). I això en condicions de repòs, doncs durant l'exercici la quantitat es pot incrementar fins a 6 vegades més. Amb totes aquestes dades pretenc il·lustrar com n'és de complexa la maquinària cel·lular, perfecte en el seu funcionament i autosuficient (bé, això si tot va com ha d'anar, és clar). Per això mateix, a la vegada, la cèl·lula és altament susceptible de patir desequilibris si s'interfereix d'alguna manera, en algun lloc, el seu sofisticat maquinari. I les conseqüències poden ser molt diverses, com, per exemple, una deficiència en la seva funció, una transformació o, fins i tot, la mort de la cèl·lula.

Les cèl·lules, quan ja no són necessàries, o quan estan mortalment ferides, moren. El procés es denomina *apoptosi* quan es tracta d'una mort cel·lular programada, una espècie de "suïcidi individual" en favor del "bé col·lectiu" (en paraules de Bill Bryson, les cèl·lules moririen "amb gran dignitat").<sup>9,10</sup> Milers de milions de cèl·lules pròpies moren cada dia, i el seu contingut és eliminat per altres milers de milions que, gràcies a aquest sacrifici, poden continuar vivint.

Però la cèl·lula també pot patir alteracions per mal funcionament i morir quan no ho hauria de fer, és a dir, per circumstàncies alienes a les necessitats fisiològiques, i en aquest cas es parla de *necrosi*.<sup>9</sup> I, finalment també, pot ser que una cèl·lula no expiri de les formes descrites, sinó que en comptes d'això comenci a dividir-se i a proliferar de forma descontrolada; llavors, el resultat pot ser el càncer. Per sort, només en comptades ocasions es descontrola aquest procés. Els humans patim com a mitjana un tumor maligne per cada 100 000 bilions de divisions cel·lulars i, precisament per aquesta baixa probabilitat, Bryson defineix el càncer com “la mala sort en tots els sentits possibles”.

És absolutament sorprenent, vist el que passa al seu interior, que dins la cèl·lula el més normal és que tot vagi raonablement bé, i durant molts anys. Tot va d'una manera fluïda i reiterada, no només dins la cèl·lula, sinó entre unes i altres ja que existeix una relació tan enorme entre elles que permet una harmonia perfecte en tot l'organisme. I és sorprenent perquè cada dia, moltes vegades, hi ha moltes possibilitats de que per alguna raó s'alteri aquesta harmonia, que algun dels protagonistes que condicionen el funcionament perfecte de la cèl·lula falli i es produeixi algun fet no desitjable. Aquesta conseqüència és la que considerem com una anomalia, una alteració que, en definitiva, probablement derivi en una malaltia.

## 2. EL MITOCONDRI

No és el moment aquí d'analitzar els aspectes de la biogènesi mitocondrial, ni tampoc, de nou, em veuria capaç de fer-ho amb la suficient profunditat i coneixement propis d'un expert en el tema. Però sí que voldria cridar l'atenció sobre algunes particularitats de la composició i funcionament d'aquesta estructura subcel·lular tan especial, i a la vegada amb un paper tan fonamental, que sense ella la vida altament desenvolupada, entesa com a éssers que respirem oxigen, probablement no seria possible.<sup>9,11</sup> De fet, algunes teories apunten que si la vida va trigar tant en fer-se complexa va ser perquè el món va haver d'esperar a que els organismes més simples haguessin oxigenat suficientment l'atmosfera. “Els animals no podien reunir l'energia suficient per treballar”, en paraules de Fortey<sup>12</sup> i citant textualment un paràgraf de Bill Bryson.

Els mitocondris absorbeixen l'oxigen i el manipulen d'una manera tan particular que aconsegueixen alliberar energia a partir dels aliments.<sup>9,11</sup> Els mitocondris són les centrals elèctriques de las cèl·lules i n'hi ha centenars i, fins i tot, milers per cèl·lula. Aquesta quantitat és molt variable depenent de la funció que tingui la cèl·lula i de la quantitat d'energia que aquesta necessiti per portar-la a terme. En qualsevol cas, el conjunt altament especialitzat dels òrgans i sistemes, cadascun en les seves funcions respectives, fa que pràcticament tot l'aliment i tot l'oxigen que entra al cos s'entregui, un cop processats, als mitocondris, on es converteixen en una molècula coneguda com adenosinatrifosfat (ATP).<sup>11,13</sup> És com si les dues funcions vitals de l'ésser humà, menjar i respirar, estiguessin pensades per al mitocondri i aquest, generosament, ho retorna en forma d'ATP. Aquesta molècula, l'ATP, és pura energia per portar a terme totes les reaccions cel·lulars. Sense aquest truc tan enginyós (com un auxili), probablement la vida a la Terra avui només seria un fang de simples microbis. Els mitocondris són molt petits (en un gra de sorra n'hi cabrien mil milions), però també són d'una voracitat extrema. Com he apuntat abans, quasi tots els nutrients que absorbim i quasi tot l'oxigen que inhalem són per alimentar-los.

I aquesta és la funció principal del mitocondri, produir energia en forma d'ATP. A efectes funcionals, les molècules d'ATP són com petits cúmuls de piles (bateries) que es desplacen per la cèl·lula proporcionant energia per a tots els processos cel·lulars que requereixen energia. Se'n gasta molt d'ATP, i per tant, també se'n necessita molt. Una cèl·lula típica del nostre organisme pot tenir en un determinat moment uns 1000 milions de molècules d'ATP, que es gasten en dos minuts i cal tenir-ne 1000 milions més una altra vegada al cap d'aquests dos minuts. Es calcula que cada dia es produeix i s'utilitza un volum d'ATP equivalent més o menys a la meitat del propi pes corporal. Atesa la perfecció de la cèl·lula, es pot comprendre com n'ha de ser de precís tot aquest mecanisme de producció d'ATP a partir de la utilització de l'oxigen i els aliments. Ni se n'ha de fabricar massa, ni tampoc massa poc: la quantitat adequada en funció de cada circumstància. Òbviament, si aquest procés s'altera i es produeix un dèficit d'energia, la cèl·lula se n'ha de ressentir. Aquest dèficit d'energia es pot produir, essencialment, per tres motius: 1) per una aportació insuficient d'oxigen, 2) perquè faltin aliments i 3) per un mal funcionament del mitocondri. I en gairebé totes aquestes circumstàncies, sobre tot quan el mitocondri no funciona correctament,



és molt probable també que es produeixin “danys col·laterals”, especialment quan la combustió de l’oxigen no resulta eficient i es generen subproductes tòxics per a diversos components de la cèl·lula (els anomenats “radicals lliures d’oxigen” o RLO).

A més a més de la producció d’energia, el mitocondri també participa en altres funcions molt importants per a la cèl·lula, com són: l’homeòstasi del calci, la producció de calor (són ‘les estufes’ que ens mantenen a 37°C), intervenen en la síntesi de molts metabòlits cel·lulars (com els grups hem, el colesterol, aminoàcids, nucleòtids o fosfolípids, entre d’altres), i estan implicats en el procés d’apoptosi, que com hem comentat anteriorment, pot determinar la supervivència cel·lular.

No podríem viure ni dos minuts sense mitocondris però, per altra banda, fins i tot després de 1000 milions d’anys d’estreta “convivència necessària” entre cèl·lula i mitocondri, és un fet que aquests orgànuls es malfien de nosaltres, es comporten d’una manera com si les coses algun dia arribessin a no poder anar bé entre nosaltres i ells. Per exemple, conserven el seu DNA, el seu RNA i els seus ribosomes, absolutament diferents dels nuclears i citoplasmàtics. Es reproduïxen a un ritme diferent que les cèl·lules amfitriones, constantment es fusionen i es fisionen per intercanviar components i formar una xarxa de comunicació mitocondrial autònoma; tot això, però, fins ara en una aparent estreta relació de confiança amb les necessitats de la cèl·lula, malgrat que el seu comportament podria fer pensar absolutament el contrari. Semblen bacteris, es divideixen com bacteris i a vegades reaccionen als antibiòtics com si fossin bacteris. Ni tan sols parlen el mateix llenguatge genètic que la cèl·lula on habiten. En definitiva, tal i com descriu molt bé aquesta especial situació Bryson, hi són, des de fa molt temps, però “encara no han desfet les maletes”. És com tenir un estrany a casa, però des de fa 1000 milions d’anys.

Un cop fet aquest cop d’ull a la cèl·lula el mitocondri, i a la especial relació entre tots dos, utilitzant sovint les mateixes i encertades expressions de Bill Bryson, cal prestar una mica més d’atenció a aquest últim, el mitocondri, ja que és el principal protagonista del treball que avui els hi vull presentar. I, a més a més, aquesta visió de la cèl·lula i del mitocondri hauria de servir per donar-nos

una idea de com d'important pot ser i és l'efecte tòxic que sobre ell produeix el fum del tabac, i les repercussions que això té sobre el funcionament dels diferents òrgans i sistemes.

Per entendre de quina manera el mitocondri exerceix les seves funcions, cal conèixer com s'estructuren i actuen tres dels seus principals components<sup>9,11</sup>: 1) el DNA (que és propi, diferent al DNA nuclear); 2) el cicle de Krebs, i 3) la cadena respiratòria mitocondrial (CRM). Però cal no oblidar que el mitocondri conté molts altres sistemes enzimàtics i metabòlics clau per altres processos, com per exemple, per citar-ne tan sols un, l'important fenomen de l'apoptosi ja exposat abans. Efectivament, el mitocondri intervé molt activament en un dels processos més fonamentals del control cel·lular, la mort programada, fet transcendental per tal d'evitar un desgavell en tot aquest complex sistema.

El primer component, el DNA mitocondrial, té com a funció (igual que el DNA nuclear) d'emmagatzemar la informació que permet fabricar les proteïnes a través del RNA (la paraula utilitzada pels bioquímics per a aquesta funció és la de que els gens, que contenen DNA, "codifiquen" per a determinades proteïnes). Aquest és un procés que precisa, entre altres coses, que el DNA estigui intacte i que, en el cas del DNA mitocondrial, n'hi hagi suficient (doncs el seu nombre és variable). El DNA està format per quatre components químics: adenina, guanina, citosina i timina (conegudes per les lletres de les seves inicials, AGCT), que s'emparellen d'una forma determinada i formen una doble cadena helicoïdal. Es podria fer el símil, ja conegut, que el DNA és com un llibre que recull tota la nostra informació genètica i en el que es van repetint aquests 4 components químics i que en aquesta analogia estarien representats per 4 lletres. Aquest llibre és enorme, però les lletres que l'integren (6 400 milions de lletres, equivalents als 3 200 milions de parells de bases del genoma humà) només en un 2% de les vegades conformen una paraula (en el mateix símil, un "gen" del total de 20 000 que conformen el genoma humà). Quan aquest llibre va la impremta, es copia amb força exactitud (es reduplica, en termes científics), però segons com, de tant en tant (es diu que un cop cada milió de vegades), hi ha una d'aquestes 4 lletres que es col·loca d'una forma equivocada (mutació puntual). Òbviament, i ja en un context de realitat, això pot repercutir (no passa sempre) en la seva feina i donar lloc a la síntesi d'una proteïna anòmla i, per tant, amb una funció defec-

tuosa. Això no és dir gaire, doncs dins de cada cèl·lula hi pot haver, en cada moment, fins a 100 milions de proteïnes treballant. Per tant, que se n'afecti una o varies pot ser que, fins i tot, no tingui gaire importància. O potser sí, millor dit, ja que és molt possible que sí que tingui importància, però que encara no en coneguem l'abast. Per exemple, està ben establert que mutacions puntuals patogèniques i les delecions (pèrdua d'un fragment de DNA) a gran escala en el genoma mitocondrial, així com la depleció generalitzada del DNA mitocondrial (és a dir, una disminució del nombre de còpies del genoma), tenen conseqüències greus en òrgans com el cor, on l'ATP produït pel mitocondri és necessari per mantenir la contractilitat del miocardi. El genoma nuclear controla la biosíntesi mitocondrial i està protegit contra agressions externes; en canvi, els gens de DNA mitocondrial presenten una taxa de mutacions molt més elevada, en no disposar de la mateixa protecció. Efectivament, a diferència del nuclear, el DNA mitocondrial no té histones (són proteïnes que tenen com a funció protegir el DNA), té un mecanisme de reparació de DNA limitat i, a més a més, es troba exposat a l'efecte tòxic d'espècies reactives de l'oxigen (RLO) generades per la CRM, que es troba molt propera al genoma mitocondrial.<sup>14,15</sup> Finalment, el DNA mitocondrial tampoc conté introns; per tant, en el símil d'abans, si el llibre fos de DNA mitocondrial en comptes de nuclear, tot el llibre estaria format per paraules (en el cas del nuclear només era un 2%) i, per tant, qualsevol canvi pot ser important.

El mitocondri és l'únic orgànul de la cèl·lula eucariota animal que disposa de material genètic (DNA) propi. Es tracta d'una molècula circular i covalentment tancada (com una piloteta). Cada mitocondri conté múltiples còpies d'aquest material genètic. El DNA mitocondrial<sup>11,14</sup> engloba 16 569 parells de bases que codifiquen per a 13 proteïnes, les quals constitueixen una part (un 25% aproximadament) de les proteïnes que componen els 5 components enzimàtics involucrats en el transport d'electrons i la fosforilació oxidativa de la CRM. La resta de proteïnes, el 75%, està codificat pel DNA nuclear. El DNA mitocondrial també s'encarrega de la síntesi de part de la maquinària que té com a funció dur a terme la traducció proteica mitocondrial (és a dir, elements que no són pròpiament de la CRM), com 2 RNA ribosomals, (RNAr) i 22 RNA de transferència (RNAt).

El segon gran component del mitocondri és el cicle de Krebs (o cicle dels àcids tricarboxílics). Aquest és un sistema intel·ligent que la mitocondria té per tal d'utilitzar els aliments (substrats) i proveir de fuel (electrons) a la cadena respiratòria mitocondrial. La majoria de les rutes metabòliques que descomponen nutrients de la cèl·lula (lípid, proteïnes o sucres) convergeixen al final al mitocondri en el cicle de Krebs. La beta-oxidació dels àcids grassos i l'oxidació dels hidrats de carboni a través del cicle de Krebs genera la major part del NADH i FADH intramitocondrials, que són la font directa d'electrons per a la CRM. Aquesta, la CRM, és la que probablement es veu més afectada per l'acció tòxica del fum del tabac, com veurem d'aquí un moment.

I aquesta, precisament, la CRM, és el tercer element mitocondrial del qual els volia parlar. La CRM és ubicada al si de la membrana interna del mitocondri i està constituïda per un conjunt de 5 complexos enzimàtics en total, que reben el nom de complex I, II, III, IV i V. Aquests complexos tenen una disposició en l'espai molt particular, que fa que el seu funcionament sigui com si estiguessin situats un a continuació de l'altre, malgrat que en realitat formen una xarxa espacial ben teixida i ordenada, abrigada i protegida pels components lipoproteics de la membrana interna mitocondrial. Tenen una funció molt important: sintetitzar ATP.

El seu funcionament, d'una manera resumida, és el següent. El primer i segon complexos reben directament un electró del cicle de Krebs (que es troba a la matriu mitocondrial); en rebre un electró, aquests complexos I i II, que estaven inicialment en un estat oxidat, resulten reduïts. A continuació, aquest electró és cedit al complex III a través d'un transportador, el coenzim Q, que és l'encarregat de transportar l'electró dels esmentats complexos I i II al III. Aquest complex III, en rebre l'electró, resulta reduït mentre que els anteriors (I i II), en perdre'l, es tornen a oxidar en espera que els hi arribi un nou electró del cicle de Krebs. Seguidament, el complex III reduït entrega l'electró al complex IV (a través d'un altre transportador, el citocrom c) i aquesta pèrdua fa que el complex III, que abans estava reduït, s'oxidi, mentre que aquest darrer, el complex IV, que rep l'electró, es redueix. Llavors, el complex IV dona l'electró a l'oxigen, el qual en reduir-se es transforma en aigua, mentre que aquell, el complex IV, en perdre l'electró es torna a oxidar i resta així preparat per rebre un nou electró del complex III. El resultat de tot aquest procés de traspàs d'electrons d'un

complex a l'altre és l'expulsió d'hidrogenions ( $H^+$ ) a l'espai intermembranós (entre la membrana interna i l'externa), on s'acumulen donant lloc a una diferència de concentració respecte a la matriu mitocondrial. A més a més, com que els hidrogenions tenen càrrega positiva, s'origina al mateix temps una diferència de càrrega: molt positiva a l'espai intermembranós i menys positiva a l'interior de la matriu. La conseqüència d'aquesta diferència de concentració i de càrrega (més a l'espai intermembranós i menys a la matriu mitocondrial) s'anomena gradient electroquímic i fa que tots aquests hidrogenions tinguin una forta tendència a entrar de nou dins la matriu mitocondrial a través de la membrana interna per igualar concentracions i càrrega. Però el fet és que aquesta membrana interna és molt poc permeable i només ho poden fer a través del darrer complex de la CRM, el V, que té una configuració espacial que li dona forma d'embut. I quan els hidrogenions travessen aquest complex, l'energia que es desprèn s'aprofita per formar ATP a partir de d'una molècula d'ADP. Aquesta reacció de síntesi d'ATP per part del complex V de manera acoblada al consum d'oxigen pel complex IV s'anomena *fosforilació oxidativa* i va valdre la concessió del Premi Nobel al seu descobridor, Peter Mitchell, l'any 1978. Aquest ATP és l'energia que les cèl·lules necessiten per portar a terme els seus processos vitals. La fosforilació oxidativa genera el 80-90% de l'ATP cel·lular.

Quina és la conseqüència d'un mal funcionament, pel motiu que sigui, de la CRM? Doncs, en primer lloc, que s'escapen electrons fora d'aquesta cadena teòricament perfectament acoblada. Cada electró és com un tronc de llenya que, en una cadena humana altament organitzada, passa d'un component d'aquesta al següent, fins que l'últim l'aboca a la caldera per mantenir encès el foc i fer funcionar la màquina. Si pel camí en cau algun, la cadena perd la seva eficiència, hi ha el risc que s'encengui on no ho hauria de fer, i a més amb una mala combustió i escapant-se fum, i la màquina no podrà funcionar de forma adequada, perdrà potència. Si traslладem aquests fets al seu entorn real, aquesta pèrdua de fuel (electrons) resulta automàticament en una menor capacitat de reducció de molècules d'oxigen i, per tant, simultàniament, en una menor síntesi d'ATP (energia); el grau de disminució de síntesi d'energia és el factor que hauria d'influir més negativament en els processos cel·lulars. En segon lloc, no s'arriba a reduir completament l'oxigen i es generen radicals lliures de l'oxigen (troncs mal cremats que desprenen fum).<sup>11</sup> Aquestes molècules, els RLO, són espècies químiques

altament reactives que han perdut electrons de la seva última capa de valència (l'anió superòxid, el peròxid d'hidrogen o l'anió hidroxil en són uns exemples). I, de manera semblant al que succeeix en la química, on tot tendeix a l'estabilitat, aquests RLO busquen l'electró que els manca en les molècules veïnes, com els isòtops radioactius busquen neutrons, i, si poden, els hi prenen. Són com lladres d'electrons. Això fa que, a la vegada, les molècules del voltant damnificades, cometin altres robatoris d'electrons, de manera que els robatoris, el desordre i el caos s'estenen per la cèl·lula amb conseqüències, com fàcilment es pot imaginar, tòxiques i lesives. És el conegut com *dany oxidatiu*, que repercuteix sobre alguns constituents de la pròpia cèl·lula, com el DNA, proteïnes, lípids i carbohidrats. Recordin que el DNA mitocondrial, en no disposar d'histones, és molt vulnerable a aquest dany i el resultat és el d'una alteració en els mecanismes que codifiquen per a les proteïnes que depenen d'aquell. A més a més, l'afectació de les proteïnes directament pels RLO condiciona un mal funcionament d'aquestes i de tots els sistemes enzimàtics que en poden dependre. Finalment, el dany sobre els lípids serà especialment crucial per al funcionament de les membranes i, indirectament també, dels sistemes enzimàtics que estan immersos en elles, com per exemple, la mateixa CRM. Tot plegat constitueix un cercle viciós, que s'autoalimenta i contínuament s'autolesiona, i que en funció de la seva durada i intensitat condicionarà el grau de gravetat i les seves repercussions últimes. El resultat final és una alteració de les funcions i components del mitocondri, de la cèl·lula i del sistema de l'organisme que en depèn.

### 3. EFECTE TÒXIC DEL FUM DEL TABAC

El consum de tabac constitueix un hàbit tòxic que s'ha relacionat amb el desenvolupament de lesions en pràcticament tots els òrgans i teixits. Aquests efectes són la conseqüència de l'acció d'algun o alguns dels més de 4000 components que es troben en el fum dels cigarrets, entre els quals destaca el monòxid de carboni (CO).<sup>16,17</sup> La majoria d'aquests components tòxics fruit de la combustió del tabac (i del paper) constitueixen, per sí mateixos, radicals lliures de l'oxigen, substàncies altament nocives per a la cèl·lula (per la seva capacitat de robar electrons) i dels quals ja hem parlat força vegades al llarg d'aquesta exposició. Però és que, al mateix temps, aquestes substàncies tòxiques del fum

del tabac són capaces d'estimular també la producció endògena de RLO per part dels mitocondris, perquè interfereixen en el bon funcionament de la CRM, segons estudis experimentals en animals.<sup>18</sup> És, en definitiva, la perpetuació d'un cercle viciós de lesió cel·lular.

Segons alguns d'aquests estudis experimentals, la base de l'afectació mitocondrial pel fum del tabac és fonamentalment pel seu contingut en monòxid de carboni (CO). L'efecte tòxic del CO s'explica per dos mecanismes: 1) hipòxic i 2) cel·lular.<sup>19</sup> La *teoria hipòxica* es basa en la capacitat del CO en unir-se a l'hemoglobina (Hb), un cop s'ha inhalat i que ha difós a la sang. El CO té unes 350 vegades més afinitat que l'oxigen per l'Hb, cosa que fa que el desplaci i ocupi el seu lloc, i explica perquè petites dosis, però durant un temps prolongat, poden resultar tan lesives en intoxicats per aquest gas. A la sang, el CO forma un complex altament estable i, a la vegada, molt lentament reversible, la carboxihemoglobina (COHb). Aquest fet resulta en una hipòxia tissular i cal reconèixer que aquest és, sense cap mena de dubte, el principal mecanisme de toxicitat del CO en l'organisme i responsable de la majoria de símptomes i signes en els pacients intoxicats per aquest gas.

Per altra banda, la *teoria cel·lular* intenta explicar el fet que no tots els símptomes i signes són deguts a aquesta hipòxia tissular, sobre tot segons estudis en animals amb simptomatologia del sistema nerviós central. Així mateix, també en humans s'ha comprovat que no sempre la concentració de COHb a la sang es correlaciona amb els símptomes que presenta un pacient amb intoxicació per CO.<sup>17</sup> Aquest fet s'ha intentat explicar, entre altres motius, perquè el CO no només té afinitat per la Hb, sinó també per altres molècules com la *citocrom c oxidasa*, que de fet és el nom propi del penúltim complex enzimàtic (complex IV) de la CRM. El CO específicament s'uneix al citocrom  $a_3$ , el principal component d'aquest complex IV, i que s'encarrega de passar els electrons del citocrom c a l'oxigen. Per fer-se una idea de la gravetat d'aquest fet, només cal recordar que altres coneguts tòxics com el cianur, l'òxid nítric o el sulfur d'hidrogen exerceixen el seu efecte a través del mateix mecanisme d'acció.

Altres citocroms, com el  $cbb_3$ , també es podrien afectar pel mateix mecanisme.<sup>20</sup> Per tant, segons la teoria cel·lular, la inhibició del complex IV

produiria una disminució de l'activitat de la CRM, que resultaria finalment en una menor producció d'energia (ATP) per part del mitocondri i òbviament amb resultats molt negatius tant per a la cèl·lula com per als sistemes altament dependents d'energia (sistema nerviós, cor, múscul, etc.). A més a més, a part d'aquesta disminució d'energia, i segons s'ha comentat abans, també es pot generar una situació de *estrès oxidatiu*, que es pot mesurar mitjançant la quantificació dels RLO.<sup>21</sup> Malgrat que els resultats encara no són del tot coincidents, i fins i tot a vegades contradictoris, s'ha comunicat que el CO també té un efecte inhibitori sobre l'apoptosi, a través de l'activació de la guanilat-ciclasa soluble. Aquest efecte s'ha associat a la inhibició de l'expressió de p53 i a la supressió de l'alliberament de citocrom c per part del mitocondri.<sup>22</sup> Aquest alliberament de citocrom c per part de la mitocòndria és crucial per iniciar el procés d'apoptosi i mantenir el control cel·lular.

En aquest context, basat en estudis en animals d'experimentació, ens vam plantejar la present línia de treball en humans, la majoria no portats a terme fins llavors, i que constitueix l'agrupació d'un seguit de treballs de recerca relacionats entre si. L'objectiu de l'estudi que els presento va ser investigar l'efecte del fum del tabac en la funció mitocondrial, analitzant aquesta a diversos nivells: 1) anàlisi de l'activitat de la CRM, producció de RLO i les seves conseqüències i lesió del DNA mitocondrial, i 2) conèixer específicament el paper del CO en la possible alteració de la funció mitocondrial. L'estudi s'ha portat a terme en quatre escenaris diferents: en primer lloc, en persones fumadores cròniques, amb la finalitat de determinar el tipus d'alteració de la CRM i el grau de reversibilitat de la mateixa, si n'hi hagués; en segon lloc, ens vam proposar estudiar també l'efecte agut del tabac en un grup d'individus no fumadors habituals; en tercer lloc, vam analitzar l'efecte tòxic del CO en la mitocòndria i en pacients amb intoxicació aguda per aquest gas, un dels principals components del fum del tabac; finalment, en quart lloc, s'ha investigat l'efecte del fum del tabac en la sang de cordó umbilical de fills de mares fumadores i en placentes corresponents a aquests nadons (és a dir, s'intentà establir la toxicitat del fum del tabac també en l'àmbit neonatal).



### 3.1. Efecte del fum del tabac en fumadors crònics

Per portar a terme aquesta fase de l'estudi, vam incloure 35 individus barons, d'una edat al voltant dels 40 anys, amb un consum de tabac superior a 20 cigarrets al dia almenys durant els últims 5 anys, i que estaven inclosos en un programa de deshabitució.<sup>23</sup> Abans de deixar de fumar, i als 7 i als 28 dies de l'abandó de l'hàbit tabàquic, es va portar a terme la determinació de monòxid de carboni en l'aire espirat i de la concentració en sang de carboxihemoglobina (COHb), per tal d'assegurar un grau total d'abstinència. L'anàlisi de la funció mitocondrial es va portar a terme en limfòcits de sang perifèrica, per ser aquest un teixit assequible i pressuposant que podria representar un bon model d'estudi. Per tant, en els temps indicats fa un moment (abans de deixar de fumar, i als 7 i 28 dies després de l'abandonament de l'hàbit), es van extreure limfòcits de sang perifèrica, on vam estudiar l'activitat de la CRM mitjançant l'anàlisi enzimàtica de cada complex per separat. El grup control el va constituir 35 persones no fumadores.

L'aïllament de limfòcits es va realitzar mitjançant un gradient de Ficoll. L'anàlisi de l'activitat dels diferents enzims de la CRM es va realitzar per espectrofotometria segons el mètode descrit per Rustin et al.,<sup>24</sup> lleugerament modificat per al complex IV.<sup>25</sup> Els resultats s'expressaren en termes absoluts (nmol/min/mg de proteïna), que reflecteixen l'activitat per cèl·lula, i relatius (segons activitat de la citrat sintasa), que indiquen l'activitat per orgànul (mitocondri). La peroxidació de les membranes, és a dir, com l'estrès oxidatiu atacava els seus components lipídics, es va analitzar mitjançant la fluorescència de l'àcid *cis*-parinàric i s'expressà en unitats de fluorescència/mg de proteïna.

El que vam observar va ser que en els fumadors actius hi havia un 23% d'inhibició de l'activitat del complex IV mitocondrial respecte al grup control ( $112,8 \pm 40,9$  vs  $146,4 \pm 62,5$ ), mentre que no vam trobar diferències significatives en la resta de complexos de la CRM. Però després de l'abandó de l'hàbit tabàquic, l'activitat del complex IV va evidenciar una progressiva recuperació que ja era evident al dia 7, fins a arribar a valors dintre de la normalitat en la determinació portada a terme als 28 dies.<sup>26</sup> La inhibició del complex IV mitocondrial (citocrom c oxidasa) es podria explicar, segons s'ha esmentat abans,

perquè aquest enzim conté citocrom a (més concretament citocrom a<sub>3</sub>), que és una molècula diana del monòxid de carboni. Molt probablement doncs, la inhibició del complex IV podria ser deguda a aquesta interacció entre el citocrom a<sub>3</sub> i el CO. Així, amb aquests resultats, es confirmaven per primera vegada en éssers humans les troballes descrites en els models animals.<sup>27</sup>

I si el complex IV funcionava malament, era lògic pensar que això podria donar lloc a una major producció de RLO. Encara que aquest nivell de la CRM no és el que pot generar més RLO (quan el complex I i III mitocondrials no funcionen adequadament és quan es generen més RLO), hi havia la possibilitat de que una distorsió del funcionament de la CRM, fos al nivell que fos, podria originar estrès oxidatiu a través d'aquest mecanisme dels RLO. Per comprovar aquesta hipòtesi, vam estudiar indirectament la presència d'aquests radicals a través de l'efecte que aquestes molècules oxidants podria tenir sobre les membranes dels limfòcits. I així va ser, doncs s'observà un clar augment (21%) de la peroxidació dels lípids en els fumadors respecte als no fumadors ( $3,49 \pm 1,27$  vs  $4,39 \pm 1,76$ ), i que es correlacionava de manera directa amb la inhibició del complex IV mitocondrial (és a dir, com més inhibició, més peroxidació).

Aquests resultats suggereixen que: 1) l'hàbit tabàquic, en els subjectes fumadors crònics, i en el nostre model d'estudi, afecta de forma evident, però reversible, l'activitat del complex IV mitocondrial i en canvi no sembla afectar-se l'activitat de la resta de complexos; 2) s'observa un major grau de peroxidació dels lípids de les membranes dels subjectes fumadors crònics respecte als no fumadors (degut, molt probablement, a aquest excés de RLO); i 3) malgrat la reversibilitat d'aquest efecte tòxic sobre el mitocondri, i de retruc molt probablement sobre la cèl·lula, cal suposar que això ha de tenir alguna relació amb els efectes nocius del fum del tabac a mig i llarg termini.

### **3.2. Efecte del fum del tabac en fumadors aguts**

Amb la finalitat de conèixer si aquesta acció tòxica del fum del tabac solament s'observa en fumadors crònics, és a dir, amb molt de temps, anys, de mantenir aquest hàbit, vam procedir a la segona fase de l'estudi que consistia en

saber les conseqüències de fumar d'una manera puntual.<sup>28</sup> És a dir, si el fum del tabac podria tenir algun efecte agut sobre els mitocondris. I per això vam reclutar 20 persones, no fumadores habituals, però que fossin capaces de fumar 5 cigarrets de tabac en 45 minuts, és a dir, a raó d'un cigarret cada 9 minuts. La realitat sobre el seu estat de no fumador es va comprovar mitjançant la realització, abans d'iniciar l'estudi, de dues determinacions per sorpresa dels nivells de COHb en sang i de CO en l'aire espirat (COAE), que van resultar negatius. Immediatament després, se'ls va sol·licitar que fumessin, davant nostre, els 5 cigarrets al llarg de 45 minuts; al final d'aquest temps, només 15 van incrementar tres vegades els seus valors basals de COHb o cinc els de COAE (augment indispensable que asseguren una inhalació suficient de fum). D'acord amb aquestes dades, es va considerar que la inhalació del fum del tabac en aquests 15 subjectes va ser efectiva, i per tant només en aquests 15 vam continuar l'estudi.

En aquests 15 individus (9 homes i 6 dones) vam analitzar l'activitat de la CRM i la peroxidació de membranes també en limfòcits de sang perifèrica. La metodologia utilitzada va ser la mateixa que en el cas dels fumadors crònics i els resultats s'expressen també en les mateixes unitats. L'estudi es va portar a terme en tres moments: 1) immediatament abans de fumar; 2) al cap d'1 minut de finalitzar el consum dels 5 cigarrets, i 3) a les 24 hores d'haver fumat el darrer cigarret. De nou, l'activitat del complex IV (nmol/min/mg proteïna) va disminuir en un 25% després de fumar els 5 cigarrets respecte als valors inicials ( $38,1 \pm 11,7$  vs  $49,4 \pm 17,1$ ;  $p=0,002$ ), però va tornar als valors basals al cap de 24 hores ( $50 \pm 19,3$ ), és a dir, com la situació d'abans de fumar. En canvi, igual que succeïa amb els fumadors crònics, no es va modificar l'activitat de la resta de complexos. Finalment, i a diferència del que passava amb els fumadors crònics, no vam observar diferències en el grau de peroxidació de les membranes en els subjectes no fumadors abans i després de fumar.

Aquests resultats posen de manifest diversos aspectes: 1) la CRM també s'afecta per l'acció puntual del fum del tabac i el complex afectat és, de nou, el complex IV; 2) en la inhalació aguda de fum de tabac no s'observa l'augment de la peroxidació lipídica de les membranes que s'objectivava en fumadors crònics, probablement perquè aquest efecte necessita un període de temps més gran de

presència del tòxic per produir-se; i 3) aquest efecte sobre el complex IV ja no és present passades 24 hores de la inhalació del fum del tabac.

L'abast des del punt de vista clínic de l'alteració del complex IV de la CRM pel fum del tabac quan es fuma d'una manera puntual, encara és lluny de poder ser avaluat d'una manera precisa. I, en aquest cas, encara és més difícil fer qualsevol conjectura que no sigui una relació epidemiològica amb la quantitat de cigarrets fumats en un període determinat. Es comprovà de nou que aquest efecte és també reversible, igual que passava en els fumadors crònics fins i tot després d'anys de fumar. De tota manera, una inhibició puntual però repetida (per exemple, els caps de setmana) i durant molt de temps de l'activitat del complex IV mitocondrial comporta una disfunció en major o menor grau de la CRM, amb teòricament les mateixes conseqüències sobre el mitocondri i la cèl·lula en general: insuficient producció d'ATP, una major producció de RLO i, molt probablement, un augment en l'apoptosi (que no fou analitzat en aquest estudi). De tota manera, en els fumadors aguts no es pogué comprovar una alteració de les membranes, però com hem dit abans, probablement aquesta manca d'efecte podria explicar-se, segurament, pel període curt de presència del tòxic a la sang.

En qualsevol cas, tots aquests canvis, mantinguts durant un temps suficient, podrien jugar un paper rellevant en moltes de les malalties derivades del consum del tabac, com per exemple, el càncer, la malaltia cardiovascular i l'envelliment precoç. Una pertorbació intensa i mantinguda del mitocondri ha de repercutir negativament en els processos cel·lulars, tal i com he comentat al principi de la meva exposició. A més, l'efecte del fum del tabac (crònic i agut) molt probablement no s'exerceix per igual en tots els teixits. Així, és lògic pensar, per exemple, que l'epiteli de la mucosa respiratòria està sotmesa, a més a més, a una major exposició dels efectes físics i químics dels components del fum del tabac, mentre que en altres teixits (com els limfòcits de sang perifèrica que hem analitzat) l'efecte tòxic pot ser degut més aviat a la inhibició de l'estat energètic de la cèl·lula. Per tant, en l'aparell respiratori la disfunció mitocondrial podria ser major i afegir-se a l'acció física del fum del tabac, amb alteració de la funció ciliar, menor resposta a les infeccions i major risc de carcinogènesi. En canvi, en els teixits amb major

dependència energètica, com cervell, cor i múscul esquelètic, l'efecte de la inhibició del complex IV mitocondrial podria ser més a llarg termini i dependre, sobretot, de la disminució de la capacitat oxidativa mitocondrial. I si amb tot això no n'hi hagués prou, la hipoxèmia mantinguda en els fumadors crònics (per efecte de la carboxihemoglobina i per la malaltia pulmonar crònica gairebé inevitable) també podria contribuir a la lesió mitocondrial.

La reversibilitat d'aquest efecte sobre el complex IV no implica que es puguin evitar les conseqüències negatives que comporta mentre dura la seva inhibició, especialment si és durant un període prolongat. De fet, aquesta hipòtesi sembla molt plausible si es té en compte l'experiència clínica amb els individus que han estat fumadors, quan després de molts anys d'haver abandonat aquest hàbit desenvolupen càncer i altres malalties cròniques. És molt possible que el dany continuat sobre determinats processos metabòlics cel·lulars i en el propi DNA tingui un paper determinant, encara que no sigui necessàriament l'únic. A més a més, l'augment del dany oxidatiu en les membranes dels limfòcits que també hem objectivat en els fumadors crònics podria contribuir a la persistència de la lesió cel·lular, ja que en els fumadors s'ha descrit una major oxidació i reparació del DNA en comparació amb els individus no fumadors.<sup>29</sup>

Una qüestió molt rellevant d'aquest estudi és que el model experimental utilitzat han estat limfòcits de sang perifèrica, un teixit que aparentment no hauria de ser l'òrgan diana o més important afectat pel tabac. Si més no, encara que el sistema hematopoètic no ha estat el més estudiat, no sembla pas que aquest estigui especialment danyat en els pacients fumadors crònics, on en canvi els teixits més afectats són altres (respiratori, cardiovascular, pell, sistema nerviós). Això fa pensar que, molt probablement, aquestes alteracions mitocondrials podrien ser fins i tot més rellevants en aquests òrgans. La dificultat afegida de l'estudi d'aquests teixits<sup>30</sup> condiona que de moment només sigui possible moure's en el terreny de l'especulació, però sense cap dubte amb una base força sòlida per formular hipòtesis prou atractives.<sup>31</sup>

Fins al moment, el que havíem demostrat és que el fum del tabac, que conté milers de substàncies tòxiques, inhibeix el complex IV mitocondrial i, inhalat d'una manera crònica, produeix a més a més una alteració de les membranes per

peroxidació dels seus lípids com a conseqüència de l'estrès oxidatiu i els RLO acumulats. Atès que el complex IV mitocondrial té com a nucli principal el citocrom  $a_3$ , com ja s'ha comentat abans, la hipòtesi més probable era que el CO fos un dels factors determinants en aquest efecte tòxic sobre el mitocondri. I per tal de conèixer aquest aspecte, vam procedir a la tercera fase de l'estudi.<sup>32</sup>

### 3.3. Efecte del CO sobre el mitocondri

En aquest cas es van utilitzar mitocondries musculars, a partir del múscul quàdriceps (*vastus lateralis*) de 10 pacients no fumadors que havien de ser intervinguts quirúrgicament de pròtesi de maluc. Amb el consentiment informat, durant la intervenció es va obtenir una mostra de teixit d'uns 2g aproximadament.

L'aïllament de mitocondris del teixit muscular es va portar a terme utilitzant la metodologia estàndard al nostre laboratori,<sup>33,34</sup> modificada.<sup>24</sup> La mostra de mitocondris així obtinguda fou fraccionada en 4 alíquotes. Cada una es va incubar durant 10 minuts a concentracions diferents de CO (0, 50, 100 i 500 ppm) amb la finalitat d'analitzar l'activitat dels diferents complexos de la CRM en aquestes condicions. Lògicament, la concentració 0 era l'equivalent a la situació en condicions basals, és a dir, sense CO. Les concentracions escollides es van triar com equivalents d'exposicions reals a aquest gas; així, la concentració de 50 ppm es considera la màxima permesa en un ambient laboral; la de 100 ppm ja es considera una concentració tòxica (no permesa de forma prolongada) i se sol acompanyar de símptomes fonamentalment digestius i neurològics; finalment, la de 500 ppm constitueix una concentració  $DL_{50}$ , és a dir, aquella en la qual sota el seu efecte, durant un temps suficient, mor la meitat dels animals exposats.

Les mostres es van incubar durant 5 minuts a 37 °C en una atmosfera que contenia CO a les concentracions descrites. L'anàlisi de les activitats dels complexos de la CRM es va fer segons la metodologia descrita anteriorment, així com les unitats per a l'expressió dels resultats.

En aquestes condicions, el CO va induir una inhibició de l'activitat del complex IV mitocondrial que va ser proporcional a la concentració d'aquest gas

(corba dosi-resposta). Així, la disminució de l'activitat enzimàtica (nmol/min/mg de proteïna) de l'esmentat complex IV a 50 ( $670\pm 401$ ), 100 ( $483\pm 182$ ) i 500 ( $379\pm 131$ ) ppm de CO va ser d'un 23%, 36% i 49% respecte a la situació en absència de CO ( $836\pm 439$ ). No vam observar cap canvi significatiu en l'activitat enzimàtica dels complexos I, II i III.

Els intoxicats per CO suposen, com el model *in vitro* que acabo de comentar, l'oportunitat d'estudiar els efectes del CO de manera aïllada, sense la possible interferència d'altres components presents al fum del tabac. I els resultats del model *in vitro* són totalment coincidents amb els obtinguts en cèl·lules mononuclears de sang perifèrica de pacients intoxicats per CO,<sup>35,36</sup> que constaten nivells inhibits de complex IV en el moment de la intoxicació que, progressivament, tendeixen a normalitzar-se al llarg de 14 dies de seguiment després de l'episodi agut.

Posteriorment, en el context clínic de la controvèrsia assistencial que existeix al voltant de quin és el millor tractament d'oxigen a aplicar als intoxicats aguts per CO, ens vàrem plantejar avaluar quin dels tractaments d'oxigen disponibles era el més efectiu per permetre una recuperació clínica i mitocondrial més evident.<sup>37,38,39</sup> En aquest estudi vàrem analitzar la funció mitocondrial en limfòcits de sang perifèrica de 60 pacients intoxicats de forma aguda per CO. De nou, l'activitat del complex IV mitocondrial es va trobar disminuïda en tots els pacients en el moment del seu ingrés a urgències respecte a un grup control; concretament, aquesta disminució va ser d'un 34% en els intoxicats lleus (amb COHb inferior al 20%) i d'un 42% en els intoxicats greus (amb COHb superior al 20% i/o clínica neurològica o cardíaca al moment d'inclusió). Aquesta inhibició del complex IV mitocondrial fou reversible en tots els intoxicats tres mesos després de l'exposició al gas, independentment de la gravetat de la intoxicació, sempre que s'apliqués oxigen hiperbàric (és a dir; oxigen a 1,5 atmosferes de pressió), ja que l'oxigen normobàric només permetia, en aquest mateix temps, una recuperació mitocondrial parcial (no significativa). La millora de la clínica també semblava més favorable per als intoxicats que havien rebut oxigen hiperbàric. En els intoxicats aguts per CO, de manera anàloga al que passava amb els fumadors aguts i de manera contrària al que passava en els fumadors crònics, els nivells d'estrès oxidatiu no s'incrementaven per sobre dels valors control, corroborant que

requereixen un temps d'exposició al tòxic prolongat per alterar-se. Aquestes dades experimentals es van correlacionar amb la presència de determinats símptomes en els pacients intoxicats, especialment els símptomes de tipus neurològic. Aquesta dada clínica fou prou important, ja que s'ha intentat relacionar aquestes alteracions mitocondrials amb l'aparició de símptomes neurològics de tipus tardà. I, efectivament, vam poder comprovar que els pacients amb síndrome neurològica tardana presentaven una recuperació anòmala del complex IV i uns nivells notablement incrementats d'estrès oxidatiu en el moment de l'ingrés. De tota manera, el baix nombre de pacients que van desenvolupar síndrome neurològica tardana (n=5) ens fa ser molt prudents amb aquestes conclusions. Per tant, aquests resultats en intoxicats, així com l'estudi *in vitro* de l'efecte del CO sobre el complex IV mitocondrial, donen suport a la hipòtesi de que aquest gas és, sense cap tipus de dubte, un dels principals components del fum del tabac que exerceix un efecte tòxic més acusat sobre el mitocondri. I es pot concloure que, encara que altres substàncies del fum del tabac poden exercir també un efecte advers sobre la CRM, es pot considerar que l'hàbit de fumar és, en certa manera, però no només això, una intoxicació crònica per CO que s'acompanya d'una alteració dels nivells d'estrès oxidatiu per un augment dels RLO. Una intoxicació, però, que es desenvolupa continuadament durant anys la immensa majoria de vegades.

### **3.4. Efecte del fum del tabac en l'etapa perinatal de mares fumadores**

En aquesta darrera fase de l'estudi, vam voler esbrinar la toxicitat mitocondrial en l'etapa perinatal secundària a l'hàbit de fumar de les mares. Efectivament, s'ha postulat que les mares fumadores tenen complicacions obstètriques i perinatals, com per exemple, major incidència de part pre-termini, mort fetal intrauterina, infant petit segons edat gestacional, mort sobtada del lactant i major probabilitat de problemes respiratoris durant la infància d'aquells nadons que han estat exposats *in utero* a l'efecte deleteri del fum del tabac. Però sense cap dubte, l'efecte més habitual és la restricció del creixement fetal intrauterí, que es tradueix en una disminució del tamany i, sobretot, del pes del nadó.<sup>40,41</sup> La reducció del pes del nadó fill de mare fumadora es podria relacionar, segons la hipòtesi que ens vam plantejar, per un decrement de l'energia cel·lular dispo-



nible per part del fetus si la lesió que sabem que causa el CO del fum del tabac envers el mitocondri del fumador crònic, en aquest cas de la mare, es traslladés als mitocondris del fetus en creixement, exposat *in utero*, o al teixit placentari, encarregat del transport d'oxigen i nutrients entre mare i fill. Per tant, aquest estudi va anar dirigit a conèixer l'estat mitocondrial (activitat de la CRM, grau d'estrès oxidatiu, estat del DNA mitocondrial, nivell d'apoptosi cel·lular o activació de les vies cel·lulars de resposta a la hipòxia) i el resultat dels embarassos de mares que eren fumadores cròniques durant la gestació.

Per això vam analitzar la funció mitocondrial i els resultats obstètrics i perinatals en els embarassos de 30 dones fumadores, 36 dones no fumadores, els seus nadons i les respectives placentes.<sup>42,43</sup> El consum de tabac es va determinar mitjançant entrevista i es va comprovar mesurant la concentració de cotinina a plasma (ng/ml), un metabòlit de la nicotina. L'estrès oxidatiu es va determinar segons el grau de peroxidació lipídica en base al contingut de malonaldèhid (MDA) i 4-hidroxiacoual (HAE) mitjançant un mètode colorimètric i normalitzant pel contingut en proteïnes ( $\mu\text{M MDA} + \text{HAE}/\text{mg}$  proteïna). La quantitat de DNA mitocondrial es va determinar amb PCR a temps real (rtPCR), amplificant el gen mitocondrial conservat ND2 respecte al gen nuclear RNA polimerasa II (relació mtND2/nRNAPolII). El nombre de mitocondris, estat d'hipòxia tissular i grau d'apoptosi es van determinar mitjançant anàlisis de Western-Blot en funció del contingut relatiu de proteïna VDAC, factor HIF1a<sup>44</sup> i proteïna pro-apoptòtica Caspasa-3, respectivament. Tots els resultats del Western-Blot es van normalitzar pel contingut en proteïna B-actina (control de càrrega cel·lular).

Els resultats van posar de manifest dades molt interessants. Així, els nadons de mares fumadores van presentar una restricció del creixement intrauterí (OR=4,130 [0,44-38,49]; p=NS), un pes més reduït en el moment del naixement (3136,15±84,31 vs 3452,75±98,66; p<0,05) i una disminució del percentil de creixement ajustat per l'edat gestacional al moment de nàixer (35,08±6,21 vs 54,20±5,87; p<0,05), respecte a les mares control.

La concentració de cotinina en la sang del cordó umbilical del fetus (per tant, equivalent a la sang d'aquest) es va associar positivament al nombre de

cigarrets consumits per les seves mares ( $R^2=0,405$ ;  $p<0,05$ ). En conseqüència, la cotinina, un derivat de la nicotina, semblava estar travessant, sense restriccions, la barrera placentària.

Pel que fa a l'estat mitocondrial, com era d'esperar, les cèl·lules sanguínies de les mares fumadores presentaven una disminució significativa (34%) en l'activitat del complex IV mitocondrial respecte al grup control. Però és que aquesta disminució encara era més destacable i significativa en els seus nadons (43%) i, a més a més, s'acompanyava d'una disminució (malgrat no ser significativa) de la quantitat de DNA mitocondrial ( $2,28\pm 0,32$  vs  $2,62\pm 0,25$ ,  $p=0,401$ ) i un augment de l'estrès oxidatiu ( $0,65\pm 0,08$  vs  $0,60\pm 0,04$ ,  $p=0,594$ ). Ambdós paràmetres mitocondrials correlacionaven significativament ( $p<0,001$ ) entre mare i fill; és a dir, com més alterats els presentés la mare, més alterats els presentava el fill. I, a nivell clínic, la quantitat de tabac consumida (mesurada segons la concentració de cotinina en sang) correlacionava negativament amb el pes del nadó ( $p<0,001$ ), l'activitat del complex IV matern i fetal ( $p<0,05$ ) i, positivament, amb el grau d'estrès oxidatiu matern ( $p<0,05$ ). Vàrem constatar, doncs, que mare i fill manifestaven l'empremta tòxica mitocondrial característica del tabac i que, a més a més, existia una relació dosi-efecte i una relació entre les alteracions moleculars i la clínica.

I, en aquest punt, ens vam plantejar quin seria l'estat mitocondrial de la placenta, una estructura que permet la comunicació materno-fetal durant la gestació. Aquesta pregunta és cabdal, atès que la qualitat de la placenta és fonamental per al normal desenvolupament del fetus.

Les placentes de les mares que fumaven més de 15 cigarrets al dia presentaven valors significativament augmentats d'estrès oxidatiu respecte a les fumadores de menys de 15 cigarretes/dia o les mares no fumadores ( $19,55\pm 1,67$ ,  $15,12\pm 1,28$  i  $14,9\pm 1,11$ , respectivament;  $p<0,05$ ). També en les placentes d'aquestes mares grans fumadores vàrem objectivar una clara tendència a valors més alts, però no significatius, de DNA mitocondrial ( $1,37\pm 0,14$  vs  $1,26\pm 0,06$ ;  $p=NS$ ), així com també xifres més altes d'expressió de proteïna mitocondrial V-DAC; ambdós resultats suggereixen un increment en el nombre total de mitòcondries ( $0,78\pm 0,09$  vs  $0,44\pm 0,08$ ;  $p<0,05$ ). Per altra banda, els nostres

resultats mostraren un increment de la resposta cel·lular d'adaptació a la hipòxia del teixit placentari en mares moderadament fumadores, determinat per l'expressió de HIF1a ( $2,76 \pm 0,47$  vs  $2,38 \pm 0,45$ ;  $p=NS$ ), respecte a mares no fumadores. Finalment, aquestes mateixes mares mostraren un increment de l'expressió de la proteïna pro-apoptòtica Caspasa 3 ( $3,37 \pm 0,69$  vs  $1,55 \pm 0,27$ ;  $p=NS$ ).

Aquests resultats posen de manifest: 1) una relació clara entre l'hàbit de fumar de les mares i una disminució de pes del nadó en el moment del naixement; 2) En sang de mare i nadó, una inhibició del complex IV mitocondrial i un augment de l'estrès oxidatiu absolutament correlacionat (a) entre mares i fills, (b) amb el consum de tabac i (c) amb el pes del nadó; i 3) En les placentes de les mares fumadores sembla ser que els efectes mitocondrials del tabac depenen del tabac consumit; es poden observar conseqüències de resposta a la hipòxia i inducció d'apoptosi (en fumadores moderades) o bé d'increment de l'estrès oxidatiu i del nombre de mitocondris (probablement com a mecanisme homeostàtic compensatori de la disfunció del complex IV) en grans fumadores.

Totes aquestes alteracions mitocondrials poden jugar un paper rellevant en els resultats perinatals adversos que s'observen en les dones que fumen durant l'embaràs.

#### 4. CONCLUSIONS



El present estudi, resultat d'un seguit de treballs d'investigació respecte a la influència del fum del tabac sobre el mitocondri, constitueix la primera experiència en humans en la qual es demostra clarament el paper deleteri del fum del tabac sobre aquestes estructures subcel·lulars. Els principals resultats es poden resumir en: 1) El fum del tabac és nociu pel mitocondri, bàsicament sobre el complex IV i l'estrès oxidatiu dels lípids de membrana; 2) Aquestes alteracions mitocondrials es troben presents en fumadors crònics, però l'estrès oxidatiu no es desencadena per una exposició puntual al tabac; 3) Malgrat que l'efecte és reversible, el manteniment crònic de tal alteració mitocondrial pot ser l'origen de part de les conseqüències greus des del punt de vista clínic en les persones que fumen; 4) El principal component del fum del tabac amb acció tòxica és el CO;

5) Els intoxicats aguts per CO presenten uns efectes mitocondrials molt similars als dels fumadors aguts; 6) En aquests pacients, la teràpia d'oxigen hiperbàrica sembla ser més efectiva que la normobàrica per permetre la recuperació mitocondrial després d'una intoxicació aguda per CO; 7) Els fetus de mares fumadores tenen un creixement intrauterí menor que els de mares no fumadores que correlaciona amb la disfunció mitocondrial; 8) Els limfòcits de sang perifèrica de nadons de mares fumadores presenten les mateixes alteracions mitocondrials que els limfòcits de les seves mares; 9) La placenta no atura la toxicitat mitocondrial del fum del tabac, i a més a més ella mateixa també en pateix els efectes nocius; 10) L'alteració mitocondrial pot repercutir greument en la funció i biogènesi cel·lular, atesa l'afectació genètica, apoptòtica o de rutes de resposta a la hipòxia, entre d'altres; 11) Els limfòcits de sang perifèrica constitueixen un bon model per a l'estudi de les alteracions mitocondrials induïdes pel fum del tabac i el CO; 12) L'hàbit de fumar és un costum amb efectes indubtablement nocius per a la salut de la persona que fuma, de les persones de l'entorn i, en el cas de la dona fumadora, també del nadó.

## 5. REFLEXIONS FINALS

Aquests són alguns dels resultats que ha generat la nostra activitat de recerca dels darrers 15 anys en l'àmbit de la toxicitat mitocondrial del CO i que és fruit del treball i esforç dels investigadors i personal auxiliar del Laboratori de Funcionalisme Mitocondrial, del Grup d'Investigació Muscular de l'IDIBAPS. Tampoc hagués estat possible sense la col·laboració i participació activa d'altres grups de recerca i clínics interessats en aquest àmbit específic, tant del propi hospital com d'altres. La nostra voluntat en general, i la meua en particular, és seguir treballant en aquesta línia per avançar en el coneixement dels mecanismes etiopatogènics dels efectes clínics que s'esdevenen pel contacte amb aquest agent tòxic, i d'aquesta manera contribuir en el desenvolupament de la seva prevenció i tractament.

Però el nostre interès, present i futur, també se centra en l'estudi de la toxicitat clínica i mitocondrial de molts altres agents nocius, alguns d'ells emprats habitualment en la pràctica clínica com a agents terapèutics. Aquest és el cas dels



fàrmacs antiretrovirals, antipsicòtics o antibiòtics, entre d'altres, que poden presentar efectes secundaris de base mitocondrial. D'igual manera, també pretenem aprofundir en l'estudi de les bases mitocondrials de malalties musculars, trastorns neurodegeneratius (com la síndrome de Parkinson), malalties infeccioses (com la septicèmia bacteriana o la infecció pel VIH), i tantes d'altres. Són i seran les nostres modestes aportacions però que requereixen la col·laboració de professionals de tots els àmbits científics per tal de sumar els esforços de tots els professionals, cadascú en el seu àmbit d'acció, cadascú en la seva mesura, tant de l'àmbit bàsic com de l'àmbit clínic. Tots junts compromesos en una recerca traslacional, en una recerca amb resultats aplicables a la clínica, en una recerca en benefici del pacient.

Moltes gràcies per la seva atenció.



## REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Barrientos A, Marín C, Miró Ò, Casademont J, Gómez M, Nunes V, Tolosa E, Urbano-Márquez Á, Cardellach F. Biochemical and Molecular Effects of Chronic Haloperidol Administration on Brain and Muscle Mitochondria of Rats. *J Neurosci Res.* 1998;53:475-81.
2. Miró Ò, Barrientos A, Alonso JR, Casademont J, Jarreta D, Urbano-Márquez Á, Cardellach F. Effects of general anaesthetic procedures on mitochondrial function of human skeletal muscle. *Eur J Clin Pharmacol.* 1999;55:35-41.
3. Casademont J, Miró Ò, Rodríguez-Santiago B, Viedma P, Blesa R, Cardellach F. Cholinesterase inhibitor rivastigmine enhance mitochondrial electron transport chain in lymphocytes of patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 2003;206:23-6.
4. Casademont J, Miró Ò, Cardellach F. Secondary defects of the mitochondrial respiratory chain: the examples of neuroleptic use, CO toxicity, and HIV treatment. In: Villarroja F: *New frontiers in Mitochondrial Biogenesis and Disease.* Research Signpost, Kerala, 2005.
5. Garrabou G, Morén C, Nicolàs M, Grau JM, Casademont J, Miró Ò, Cardellach F. Mitochondrial pathophysiology. Chapter 12: Secondary mitochondriopathies. Coordinators: Eduardo Ruiz, Susana Cadenas. 2011 (en premsa).
6. Maldonado J, Rutllant M. Ciril Rozman. El reto asumido. Fundación Medicina y Humanidades Médicas. Barcelona, 2008.

7. Rodés J. La recerca biomèdica a Catalunya als inicis del segle XXI. Discurs de recepció de l'Acadèmic electe Joan Rodés Teixidor. RAMC, Barcelona, 2002.
8. Bryson B. Una breve historia de casi todo. RBA Libros, S.A., Barcelona, 2004.
9. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell. Garland Science, Francis and Taylor Group, 5th Edition. 2007.
10. Olson M, Kornbluth S. Mitochondria in apoptosis and human disease. *Curr Mol Med*. 2001;1:91-122.
11. Sheffler I.E. Mitochondria. John Wiley and Sons Ltd, New York, 2007.
12. Fortey R. Life: An unauthorised biography. Flamingo, Harper Collins, Londres, 1998.
13. Nicholls DG, Ferguson FJ. Bioenergetics. Elsevier Science, London, 2002.
14. Clayton DA. Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell*. 1982;28:693-705.
15. Park CB, Larsson NG. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *J Cell Biol*. 2011;193:809-18.
16. Pryor WA, Arbour NC, Upham B, Curch DF. The inhibitory effect of extracts of cigarette tar on electron transport of mitochondria and submitochondrial particles. *Free Radic Biol Med*. 1992; 12:365-72.
17. Raub JA, Mathieu-Nolf M, Hampson NB, Thom SR. Carbon monoxide poisoning: a public health perspective. *Toxicology*. 2000;145:1-14.
18. Aoshiba K, Tamaoki J, Nagai A. Acute cigarette smoke exposure induces apoptosis of alveolar macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Moll Physiol*. 2001;281:L1392-L1401.
19. Gorman D, Drewry A, Huang YL, Sames C. The clinical toxicology of carbon monoxide. *Toxicology*. 2003;187:25-38.



20. Pitcher RS, Brittain T, Watmough NJ. Complex interactions of carbon monoxide with reduced cytochrome cbb3 oxidase from *Pseudomonas stutzeri*. *Biochemistry*. 2003;42:11263-71.
21. Cardellach F, Miró Ò. Papel de la mitocondria en el proceso de la arteriosclerosis. *Clin Invest Arterioscl*. 2004;16:29-37.
22. Liu X, Chapman GB, Peyton KJ, Schafer AI, Durante W. Carbon monoxide inhibits apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res*. 2002;55:396-405.
23. Miró Ò, Alonso JR, Jarreta D, Casademont J, Urbano-Márquez Á, Cardellach F. Smoking disturbs mitochondrial respiratory chain function and enhances lipid peroxidation on human circulating lymphocytes. *Carcinogenesis*. 1999;20:1331-6.
24. Rustin P, Chretien D, Bourgeron T, Gérard B, Rötig A, Saudubray JM, Munnich A. Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clin Chim Acta*. 1994; 228:35-51.
25. Miró Ò, Cardellach F, Barrientos A, Casademont J, Rötig A, Rustin P. Cytochrome c oxidase assay in minute amounts of human skeletal muscle using single wavelength spectrophotometers. *J Neurosci Methods*. 1998;80: 107-11.
26. Cardellach F, Alonso JR, López S, Casademont J, Miró Ò. Effect of Smoking Cessation in Mitochondrial Respiratory Chain Function. *Clin Toxicol*. 2003;41:223-8.
27. Piantadosini C. Carbon monoxide, oxygen transport and oxygen metabolism. *J Hyper Med*. 1987; 2: 27-44.
28. Alonso JR, Cardellach F, Casademont J, Miró Ò. Reversible inhibition of mitochondrial complex IV activity in PBMC following acute smoking. *Eur Respir J*. 2004;23:214-8.
29. Priemé H, Loft S, Klarlund M, Gronbaek K, Tonnesen P, Poulsen HE. Effect of smoking cessation on oxidative DNA modification estimated by 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine. *Carcinogenesis*. 1998;19:347-51.

30. Casademont J, Perea M, López S, Beato S, Miró Ò, Cardellach F. Enzymatic diagnosis of oxidative phosphorylation defects on muscle biopsy: Better on tissue homogenate or on a mitochondria-enriched suspension? *Med Sci Monit.* 2004;10:CS49-53.
31. Casademont J, Garrabou G, Miró Ò, López S, Pons A, Bernardo M, Cardellach F. Neuroleptic treatment effect on mitochondrial electron transport chain: peripheral blood mononuclear cells analysis in psychotic patients. *J Clin Psychopharmacol.* 2007;27:284-288.
32. Alonso JR, Cardellach F, López S, Casademont J, Miró Ò. Carbon Monoxide Specifically Inhibits Cytochrome C Oxidase of Human Mitochondrial Respiratory Chain. *Pharmacol Toxicol.* 2003;93:142-6.
33. Cardellach F, Taraschi TF, Ellingson JS, Stubbs CD, Rubin E, Hoek JB. Maintenance of structural and functional characteristics of skeletal muscle mitochondria and sarcoplasmic reticular membranes after chronic alcohol treatment. *Biochem J.* 1991;274:565-73.
34. Cardellach F, Galofré J, Grau JM, Casademont J, Hoek JB, Rubin E, Urbano-Márquez A. Oxidative metabolism in muscle mitochondria from patients with chronic alcoholism. *Ann Neurol.* 1992;31:515-8.
35. Miró Ò, Alonso JR, Casademont J, Jarreta D, Urbano-Márquez Á, Cardellach F. Oxidative damage on lymphocyte membranes is increased in patients suffering from acute carbon monoxide poisoning. *Toxicol Lett.* 1999;110:219-23.
36. Miró Ò, Alonso JR, López S, Beato A, Casademont J, Cardellach F. Análisis ex vivo de la función mitocondrial en pacientes intoxicados por monóxido de carbono atendidos en urgencias. *Med Clin (Barc).* 2004;122:401-6.
37. Garrabou G, Inoriza JM, Morén C, Oliu G, Miró Ò, Martí MJ, Cardellach F. Hyperbaric oxygen therapy for carbon monoxide poisoning. *Intens Care Med.* 2011;DOI 10.1007/s00134-011-2262-9.
38. Garrabou G, Inoriza JM, Morén C, Oliu G, Miró Ò, Martí MJ, Cardellach F. Mitochondrial Injury in human Acute Carbon Monoxide Poisoning: The effect of Oxygen Treatment. *J Environ Sci Health.* 2011;29:32-51.

39. Cardellach F, Miró Ò, Casademont J. Hyperbaric oxygen for acute carbon monoxide poisoning. *N Engl J Med.* 2003;348:559.
40. Mitchell EA, Milerad J. Smoking and the sudden infant death syndrome. *Rev Environ Health.* 2006;21:81-103.
41. Pattenden S, Antova T, Neuberger M, Nikiforov B, De Sario M, Grize L, et al. Parental smoking and children's respiratory health: independent effects of prenatal and postnatal exposure. *Tob Control.* 2006;15:294-301.
42. Cardellach F, Garrabou G, Hernández AS, Morén C, Nicolàs M, Coll O, Miró Ò. Mitochondrial toxicity and reduced intrauterine growth in newborn of smoking pregnant women. *Euromit, Zaragoza, 2011.*
43. Córdoba S, Garrabou G, Hernandez AS, Morén C, López M, Nicolàs M, Coll O, Miró Ò, Cardellach F. Tobacco-induced mitochondrial toxicity in adverse perinatal outcome. *Euromit, Zaragoza, 2011.*
44. Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med.* 2011;365:537-47.



Discurs de resposta llegit per l'acadèmic Numerari

CIRIL ROZMAN i BORSTNAR



Excel·lentíssim Senyor President,

Molt Il·lustres Acadèmiques i Acadèmics,

Senyores i Senyors,

Agraeixo molt profundament a la Junta Directiva de la nostra Corporació que m'haig encarregat en nom de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya, donar la benvinguda oficial a l'acadèmic electe prof. Francesc Cardellach i López. Aquesta oportunitat constitueix per a mi un gran honor i a la vegada una enorme satisfacció personal. El Dr. Cardellach va nàixer l'any 1951 a Terrassa en el sí d'una família benestant de classe mitjana. El vaig conèixer l'any 1969, és a dir, fa uns 42 anys, quan com a estudiant del primer curs de Medicina va començar a fer tasques al Laboratori de l'Escola de Hematologia de l'Hospital Clínic de Barcelona. En concret, estava ajudant a la meva estimada i admirada amiga Dra. Soledad Woessner, en l'elaboració de la tesi doctoral de la Dra. Núria Pujol que estava dirigida a l'estudi del funcionalisme granulocític mitjançant el test de blau de nitro-tetrazoli. La meva coneixença del jove Cardellach va augmentar, quan tres anys després va guanyar per oposició la plaça d'alumne intern a la meva càtedra. El seu coetani en aquest èxit va ser un amic del nostre nou acadèmic, i també un molt estimat col·laborador del meu grup, Dr. Enric Carreras, el qual en una ocasió deia en broma que els alumnes interns no servien per a gaire res més que per passar les diapositives del catedràtic a classe. Tot el contrari. Jo recordo aquella època com molt entranyable, per la relació de profunda estimació que vaig poder establir amb nombrosos deixebles. I aquesta estimació va ser molt especial en el cas del Dr. Cardellach. Aquells moments van ser l'inici de la nostra prolongada relació que desembocà progressivament des d'un profund respecte

a l'afecte mutu i, finalment, a una bona amistat. Dels nombrosos contactes i iniciatives en comú que hem tingut al llarg de tants anys, em permeto destacar com a exemple només quatre: 1) Vaig ser director de la seva tesi doctoral, que llegida l'any 1979 va rebre la màxima qualificació. 2) Ell ha exercit importants càrrecs a la revista "Medicina Clínica", arribant-ne a ser Co-Secretari General a partir de l'any 2000, publicació que jo vaig dirigir durant molts anys; 3) El Dr. Cardellach ha constituït per a mi un insuperable suport en nombroses edicions del llibre "Farreras-Rozman" de Medicina Interna, i ha arribat ara a ser-ne el subdirector de l'obra, aspecte al que em tornaré a referir més endavant. 4) Finalment, junts hem lluitat en defensa de l'esperit de la Medicina Interna, tant en l'àmbit estatal com en la nostra institució.

El Dr. Cardellach ha desenvolupat tota la seva brillantíssima carrera universitària entre nosaltres, si exceptuem una estada com a *Visiting professor* a la Universitat Thomas Jefferson de Filadèlfia (EUA) l'any 1987. La limitació del temps que dispo per a la meua intervenció m'impedeix descriure la seva trajectòria amb tot el detall que mereixeria. Destacaré només uns quants trets que considero com més importants. La seva intel·ligència i capacitat de treball li han permès progressar al llarg dels anys amb molt d'èxit en les tres vessants obligades per a qualsevol metge universitari. En l'aspecte docent, i després de passar per diferents esglaons, va assolir la categoria de Catedràtic l'any 2002. En l'àmbit assistencial la seva actuació ha estat exercida en el grup de Medicina Interna, passant per tots els esglaons des de resident, metge adjunt, cap de secció i, actualment, consultor sènior, la màxima categoria reconeguda a l'Hospital Clínic de Barcelona. Finalment, la seva dedicació a la recerca ha estat, si cap, encara més brillant. És fundador i director del laboratori de funcionalisme mitocondrial del grup d'investigació muscular de l'Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer (IDIBAPS), actuant com investigador principal o co-investigador de 16 projectes de recerca finançats per organismes públics. És autor o coautor de més de 230 treballs sobre aspectes de la medicina interna, de la patologia mitocondrial i de l'àmbit docent, publicats en revistes nacionals i internacionals de prestigi, així com coautor en 17 capítols de llibre.

A banda del seu *curriculum vitae* en les tres vessants obligades per qualsevol universitari de l'àmbit clínic i ja esmentades, és a dir, l'assistència,



docència i recerca, desitjo subratllar de forma especial encara dos camps de dedicació del nostre nou acadèmic.

El primer és el de la gestió. De sempre he cregut que el dret a la crítica de les nostres institucions és menor en el cas de que no es vulgui assumir mai cap tasca de responsabilitat comunitària. En canvi, la dedicació en aquests terrenys del Dr. Cardellach ha estat exemplar, doncs ha dedicat moltes hores a les tasques de gestió, tan freqüentment desagrades. Entre elles, cal destacar el càrrec de vicedegà de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona de 2001 a 2008, així com el de degà de la mateixa institució des de 2008 fins ara.

El segon camp és la seva col·laboració en el nostre llibre Farreras-Rozman de Medicina Interna. Per diferents raons, aquest capítol mereix una consideració molt especial. El Dr. Cardellach apareix al text per primera vegada l'any 1995, a la tretzena edició de l'obra, com a component de la secretaria de redacció i com a co-autor del capítol corresponent a les Malalties musculars. A l'edició següent, catorzena, apareguda l'any 2000, assumeix les tasques de Conseller i Secretari de la primera secció "Principis de la pràctica mèdica", a la vegada que accepta el difícil paper de convertir-se en la meva mà dreta en tot el procés editorial, tasca que segons consta en el pròleg, "va exercir amb una dedicació i esperit de sacrifici insuperables". A l'edició quinzena, l'any 2004, afegeix a totes les demés funcions abans esmentades la de Subdirector de l'obra. La creació d'aquest càrrec es va fer amb una intencionalitat continuista, és a dir, la de seguir publicant aquest clàssic de la Medicina Interna, en el cas que faltés el Director, qui us parla. El Dr. Cardellach el va seguir ocupant a l'edició setzena, apareguda l'any 2008, i el manté a la dissetena que sortirà l'any proper. Les raons per les quals vaig escollir el nostre nou acadèmic perquè m'acompanyés en la Direcció del nostre tractat, van ser nombroses. Entre elles, per exemple, les que ell mateix em dedica en el discurs d'avui quan diu: "Amb ell, i d'ell, vaig aprendre a valorar molts dels seus costums (alguns gairebé malaltissos, però que m'enorgulleixo de compartir probablement amb el mateix grau "d'anomalia"), com arribar molt d'hora a l'hospital, la puntualitat, el rigor en qualsevol activitat, la necessitat d'escriure bé, la importància de l'estudi, l'immens valor del temps, la grandesa del treball continuat, la vocació per la medicina interna i el concepte del trinomi assistència, docència i recerca". Però tal vegada, la raó principal la va expressar

ell mateix en el llibre d'homenatge al meu mestre Dr. Pere Farreras Valentí quan deia: "Per aquesta obra sento, en molts aspectes, un sentiment que podria qualificar d'autèntica devoció". Crec que només així es pot assumir aquesta tasca, que requereix molts sacrificis.

I ja acabant aquest apartat, no em resisteixo a fer la pregunta: ¿Com és pot valorar la feïnada que representa l'edició repetida d'un llibre d'aquesta naturalesa? Cap paràmetre bibliomètric ho pot expressar. No val el factor d'impacte, l'índex de citacions ni el factor h. Tal vegada el més important és l'íntima satisfacció d'haver contribuït a la formació de centenars de milers d'alumnes i professionals en exercici, a tot el món de parla hispana. Aquesta espècie de docència a distància té un mèrit indubtable i que en l'anàlisi del *curriculum vitae* del Dr. Cardellach desitjo destacar.

És lògic que el nostre nou Acadèmic hagi rebut ja alguns reconeixements, i que segons el meu parer són menys dels que mereix. Així, l'any 2004 va ser destacat amb el Premi a l'Excel·lència Professional (Medicina Hospitalària) atorgat pel Consell de Col·legis de Metges de Catalunya ; l'any 2006 va ser elegit Membre corresponent de la nostra Reial Acadèmia i l'any 2010 rebé el Premi Jaume Vicens Vives (Facultat de Medicina-Hospital Clínic de Barcelona) al projecte per a la millora de la docència clínica de Grau i Postgrau.

Com a conclusió d'aquest apartat, em plau subratllar el profund agraïment que el Dr. Cardellach expressa a la seva família, reconeixent el sacrifici que aquesta ha fet per tal de facilitar la seva total dedicació a les tasques professionals tan absorbidores. No tothom sap que la Begoña va ocupar durant més de 15 anys el lloc de meva secretària, circumstància que va permetre que tots dos es coneguessin. Vagin també de part meva unes paraules de profund agraïment a ella per la magnífica tasca que va dur a terme durant aquella etapa.

Passant a comentar el seu discurs científic, no resisteixo l'oportunitat de referir-me breument com va nàixer la vocació del Dr. Cardellach per les malalties musculars. Des de sempre he insistit que els internistes generals de l'àmbit universitari estan obligats a dedicar una part del seu temps a la recerca. I donat que no poden fer investigació en tota la medicina interna, és imperatiu que

seleccionin una línia específica. Aquesta idea la vaig difondre repetidament entre els meus deixebles internistes no especialitzats i entre tots estàvem buscant un camp idoni. Un dia vaig llegir a la revista “Lancet” que s’havia ideat una agulla per fer amb facilitat biòpsies musculars. I a partir d’aquell moment nasqué al nostre hospital el Grup dedicat a l’estudi de malalties musculars, en el qual han destacat, a banda del nostre nou acadèmic, els professors Álvaro Urbano Márquez i Josep María Grau i Junyent. El Dr. Cardellach va aprofundir en la matèria durant la seva estada a la Universitat Thomas Jefferson de Filadèlfia durant l’any 1987, institució a la qual sol tornar amb freqüents visites.

La part científica del seu discurs conté quatre capítols, dels quals els tres primers (cèl·lula, oxigen i mitocondri) constitueixen en realitat una introducció pel quart (efecte tòxic del fum del tabac), molt més desenvolupat a l’exemplar escrit del seu discurs. L’exposició és tan excel·lent que en realitat no dóna lloc a molts comentaris.

El nostre nou acadèmic demostra la seva gran capacitat didàctica quan descriu els fets evolutius que s’han succeït fins a la nostra absoluta dependència de l’oxigen, i el sorgiment de les cèl·lules eucariotes. En aquest procés crida la atenció que la capa d’oxigen que rodeja la terra es tant minsa. També és atractiva la hipòtesi segons la qual l’origen dels mitocondris, característics de la cèl·lula eucariota, fóra la invasió per part d’algun bacteri equivocat. Impressiona saber que es van necessitar uns 1000 milions d’anys per tal que les cèl·lules aprenguessin a agrupar-se i formar els éssers pluricèl·lulars complexos. I que en cada cèl·lula hi hagi 100 milions de molècules, essent totalment sorprenent que malgrat aquesta complexitat, els processos fisiològics esdevinguin habitualment sense cap anomalia.



Res del que ens presenta el Dr. Cardellach en els seus estudis s’entendria sense el coneixement mínim del mitocondri. La seva funció principal consisteix en absorbir oxigen i mitjançant els seus complexos mecanismes alliberar energia a partir dels aliments. El discurs ens il·lustra amb gran detall l’estructura i la funció dels mitocondris, des del seu DNA propi –diferent del DNA nuclear-, passant pel cicle de Krebs i, sobre tot, la seva cadena respiratòria amb els 5 complexos enzimàtics que reben el nom de complex I, II, III, IV i V.

El nucli central del discurs tracta de l'efecte tòxic del fum del tabac. Entre més de 4000 substàncies tòxiques del mateix, destaquen el monòxid de carboni (CO) i la producció de radicals lliures d'oxigen per interferència amb el bon funcionament de la cadena respiratòria.

El nostre nou acadèmic ens presenta quatre estudis del seu equip analitzant justament l'efecte del fum de tabac sobre la funció mitocondrial. Conscient de la importància que té la recerca traslacional, aquestes investigacions s'han dut a terme no en experimentació animal, sinó en humans.

Així, en un grup de fumadors crònics van demostrar que el fum de tabac afecta de forma reversible el complex IV mitocondrial, a la vegada que s'hi troba un major grau de peroxidació dels lípids de les membranes. En els fumadors aguts, també es produeix l'afectació del complex mitocondrial IV, però sense que s'observi l'augment de la peroxidació lipídica. L'efecte nociu sobre el complex IV també es comprovà en mitocondris aïllats i a més a més era proporcional a la concentració creixent de CO. En cert sentit, doncs, l'hàbit de fumar suposa, juntament amb altres factors, una intoxicació crònica per CO. Aquests interessants resultats es van complementar amb un altre estudi demostratiu de l'efecte nociu sobre els nadons que té l'hàbit de fumar de les mares fumadores. Finalment, la presentació dels resultats va seguida d'una sèrie suggeridora de reflexions finals.

Ha arribat el moment de cloure aquest parlament, tot i que la densitat del discurs presentat justificaria encara molts més comentaris. Tots som conscients dels grans mereixements del professor Cardellach per a entrar a formar part d'aquesta corporació. De la seva presentació i dels meus comentaris hem pogut deduir que es tracta d'una extraordinària personalitat acadèmica que representa un model de l'internista modern. D'una banda, el caracteritza una ben reconeguda capacitat d'assistir a qualsevol malalt, sense que aquest hagi estat classificat prèviament pel diagnòstic. El seu compromís amb la docència es exemplar, i això no tan sols pel que fa a l'ensenyament presencial, sinó de forma especial els seus grans i meritoris esforços per influir en la formació dels estudiants i metges a distància, en tot el món de parla hispana. Cal destacar de forma especial el seu sentit de sacrifici a l'hora d'assumir importants càrrecs de gestió. Finalment,



amb tota la trajectòria investigadora culminada amb una sèrie d'interessants estudis biològics que ens ha presentat, demostra amb escreix la seva capacitat de recerca. El seu concurs a la nostra Acadèmia serà d'una vàlua innegable i, per tot això, Excel·lentíssim senyor President, us prego que procediu a imposar al professor Francesc Cardellach i López la medalla d'aquesta docta Corporació.

He dit.





