

UNO DE LOS NUESTROS

Rita Levi-Montalcini, la dama del sistema nervioso

María Paz Herráez y Marta Lombó
Área de Biología Celular. Universidad de León

El próximo año se cumple una década del fallecimiento de la “dama del sistema nervioso”. Las notables contribuciones de la Dra. Rita Levi-Montalcini a la Ciencia, especialmente en el campo de la Neurobiología, la convierten en una de las científicas clave del siglo XX. Si a ello unimos su trayectoria vital (digna de un guion de Hollywood), su personalidad y su lucha incansable por la justicia social, nos encontraremos ante una de las investigadoras más singulares de la historia.

A lo largo de este artículo repasaremos la trayectoria que llevó a Rita Levi-Montalcini, junto a su colega Stanley Cohen, a ser galardonada con el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1986 por el descubrimiento, en el año 1952, del factor de crecimiento nervioso (NGF, del inglés *Nerve Growth Factor*). Dicho logro marcaría un antes y un después en el estudio de la Biología Celular moderna. Trabajadora incansable, continuó profundizando en el conocimiento de esta molécula y sus funciones biológicas hasta su muerte, a los 103 años. Además de sus artículos científicos y los libros de los que es autora, numerosas entrevistas en distintos medios de comunicación o editoriales de prensa especializada, nos permiten conocer tanto sus aportaciones a la ciencia como sus reflexiones sobre los temas más variados. Tal y como a ella le gustaba, prescindiremos de títulos y apellidos y, con todo el respeto y admiración, nos referiremos a ella como “Rita”. Confiamos en que su enorme figura no quedará por ello disminuida.

Primeros años de Rita Levi-Montalcini

Rita Levi-Montalcini nació en abril de 1909 en Turín, en el seno de una familia judía acomodada. Rita siempre estuvo muy estrechamente unida a su madre, pero fue su padre (un hombre conservador de perspectiva victoriana) quien tendría una influencia decisiva en su vida. Él les había planteado, a ella y a sus dos hermanas, un futuro como amas de casa. Sin embargo, Rita le manifestó muy pronto que no tenía ninguna vocación de esposa ni de madre, y que su intención era seguir estudiando. La muerte de su institutriz, Giovanna, la había afectado tanto que quería estudiar Medicina y, pese a que su padre le planteó numerosas objeciones, finalmente le dio su aprobación. Emocionada, Rita se dedicó en cuerpo y alma a los exámenes de acceso, y en otoño de 1930 entró por primera vez en el Instituto Anatómico de la facultad de Medicina de Turín.

Inicios en la investigación con Giuseppe Levi

En el segundo año de carrera, Rita inició su actividad investigadora como estudiante interna en el grupo liderado por Giuseppe Levi (con quien no tenía ningún tipo de parentesco) y que era famoso entre los alumnos por su gran talento científico y por su manifiesta oposición al régimen fascista. La concesión del

Nobel a tres de sus pupilos (Renato Dulbecco, Salvador Luria y Rita Levi-Montalcini) da prueba de su gran capacidad como Maestro con mayúsculas. El primer encargo que le hizo Giuseppe Levi fue un tedioso y desagradable análisis del desarrollo de las circunvoluciones cerebrales en fetos humanos, tarea que frustró y desesperó a Rita, y que estaba abocada al fracaso desde su inicio. Posteriormente, Rita comenzó los experimentos que se enmarcarían dentro de su tesis doctoral. Levi le encargó el estudio de la formación de colágeno reticular en tejidos conjuntivos, musculares y epiteliales; un tema que afrontó con pasión y que reconcilió, en cierto modo, a discípula y maestro. Durante esta etapa, aprendió técnicas vanguardistas para la época, las cuales resultarían muy útiles para sus investigaciones posteriores. La primera fue la tinción de las fibras nerviosas conocida como impregnación cromo-argéntica, descrita por Camilo Golgi e implementada por Santiago Ramón y Cajal, a quien le sirvió para profundizar en el conocimiento de la estructura del sistema nervioso, obteniendo por ello el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1906. La segunda fueron las técnicas de cultivo celular que Giuseppe Levi había aprendido en Palermo y desarrollado en su propio laboratorio en colaboración con Hertha Meyer, científica alemana con la que Rita volvería a trabajar posteriormente.

Su investigación en época de fascismo

En 1938, en Italia se publicó la “Ley por la defensa de la raza” promulgada por Mussolini. En ella se establecía que los judíos no pertenecían a la raza italiana, por lo que se les prohibía casarse con arios y se les privaba de ciertos derechos como ejercer, entre otras, funciones académicas.

Ante tan drásticas medidas, y después de haber realizado una estancia de nueve meses en Bélgica (donde también Giuseppe Levi proseguía con sus experimentos de cultivos celulares), Rita decidió continuar su investigación en la clandestinidad. Para ello, contó con la complicidad de su madre y sus hermanos que la ayudaron a montar en su dormitorio un precario laboratorio (de lo más *robinsoniano*) dedicado al estudio del desarrollo nervioso en embriones de pollo, muestras que podía obtener con relativa facilidad. Este laboratorio, parecido según sus propias palabras “a la celda de un convento”, mantuvo a Rita y a Levi (que se unió a ella tras volver de una Bélgica ya ocupada por los alemanes) al margen de las atrocidades cometidas por el Tercer Reich. Desde la primavera de 1941 hasta el otoño de 1942, ambos científicos consagraron su tiempo a estudiar el efecto de las regiones periféricas sobre la diferenciación de las células motoras de la médula espinal y de las células sensitivas de los ganglios espinales durante los primeros estadios de desarrollo. Rita se interesó por este tema al leer una publicación del científico alemán Viktor Hamburger en la que analizaba el efecto de la amputación de un miembro en los sistemas motores y sensitivos que lo inervan. A la semana siguiente de la amputación, él observaba una reducción en el número de ganglios espinales sensitivos encargados de la inervación del miembro amputado. Hamburger interpretó que esto se debía a la falta de un factor inductivo, producido por los tejidos periféricos e indispensable para la diferenciación de las neuronas (Hamburger, 1934). Sin embargo, en los experimentos de Rita y Levi,

que utilizaron la impregnación cromo-argéntica, se apreciaba que las neuronas motoras y sensitivas sí se desarrollaban y diferenciaban en ausencia del miembro, y su regresión se producía posteriormente ante la imposibilidad de establecer conexiones con los tejidos periféricos (Levi-Montalcini y Levi, 1943, 1942). De esta forma, las neuronas no necesitarían para su diferenciación una interacción temprana con el miembro, lo que contradecía la existencia de factores inductivos producidos por el tejido periférico. El contacto con el miembro permitía su supervivencia.

La incesante guerra impidió a Rita ahondar en los resultados obtenidos, llegando a dudar de la validez de las investigaciones que ella y Levi habían llevado a cabo en su laboratorio improvisado. Sin embargo, tras la victoria de las fuerzas aliadas, su vida daría un giro inesperado. Un día de primavera de 1946, Levi la llamó a su despacho para que leyera una carta del mismísimo Hamburger. Asombrado por los resultados de los investigadores italianos, que contradecían sus propias conclusiones, Hamburger le pedía a Levi que permitiera a su discípula pasar un semestre en la Universidad de Washington en Saint Louis, la ciudad de Missouri donde él trabajaba, para discutir ambos resultados.

Investigación en el laboratorio de Viktor Hamburger

Un año más tarde, en septiembre de 1947, Rita emprendió su viaje en un barco polaco, el *Sobieski*, en el que también se había embarcado su colega Renato Dulbecco, otro de los discípulos de Levi que recibió el Premio Nobel de Medicina y Fisiología (1975), por establecer la relación entre las infecciones víricas y los procesos carcinogénicos.

A su llegada a EE. UU., Rita comprendió por qué este país era considerado “la meca de la investigación” y su estancia en él se prolongó durante 26 años, un periodo que ella siempre recordaría como el “más productivo de su vida”. Allí se codeó con las élites científicas del momento (su ya amigo Salvador Luria, Hermann Muller y James Watson, entre otros) y tuvo la oportunidad de seguir de cerca los grandes avances en otras áreas de la biología. Al principio, estos encuentros le plantearon dudas acerca del futuro de sus investigaciones en Neuroembriología, una disciplina que ni de lejos progresaba tanto como la Virología o la Genética. No obstante, esta incertidumbre sobre las investigaciones en el sistema nervioso no duraría mucho. En 1950, un ex-alumno de Hamburger, Elme Bueker, le envió por carta los resultados que había obtenido en una ingeniosa variante del experimento original de Hamburger y del que Rita había realizado en su laboratorio doméstico. En su estudio, Bueker injertó tejido tumoral de ratón, concretamente del sarcoma 180, en las paredes de embriones de pollo, observando que los ganglios sensoriales aumentaban en volumen y que las fibras de los ganglios se prolongaban hacia el interior del tumor. Él atribuyó estos resultados a la capacidad del tumor de crear condiciones favorables para el crecimiento de las fibras nerviosas, de modo similar a las provocadas por el injerto de un miembro adicional. Fue tal el interés que este fenómeno despertó en Rita y Hamburger que ambos decidieron dejar de lado sus propios experimentos y, para gozo de Bueker, repetir el que él había llevado a cabo. Para tal fin, Rita utilizó la tinción cromo-ar-

géntica que había importado de Turín, lo que les permitió observar el comportamiento de las fibras nerviosas. De esta forma, confirmó los hallazgos de Bueker y vio que el tumor no solo promovía la diferenciación de las células simpáticas y de las sensitivas de un modo mucho más intenso de lo que lo haría un miembro supernumerario, sino que estimulaba la prematura producción y ramificación de las fibras nerviosas entre las células tumorales (Levi-Montalcini y Hamburger, 1951). Además, este efecto se extendía a toda la cadena ganglionar, provocando el crecimiento de nuevas fibras nerviosas que inervaban diversos órganos e invadían las venas del embrión obstruyendo la circulación. De este modo, Rita formuló la hipótesis de que las células tumorales segregaban un factor humoral difusible que estimulaba, de manera prematura y anormal, la diferenciación de las células nerviosas simpáticas y la proliferación de las fibras nerviosas.

Ante el escepticismo de su maestro Levi, Rita decidió llevar a cabo otro experimento para convencerle, a él y al resto de la comunidad científica, de que su hipótesis sobre el factor tumoral era válida. Para ello, injertó fragmentos del S180 en la membrana corioalantoidea que recubre al embrión, evitando así un contacto directo entre el embrión y el tumor. Los resultados fueron similares a los obtenidos anteriormente: el volumen de los ganglios sensitivos y, sobre todo el de los simpáticos, era mucho mayor que el de los embriones control. Esto corroboraba que el tumor libera un factor soluble, el cual, a través del sistema circulatorio del embrión, alcanza los ganglios neuronales estimulando el desarrollo de las células nerviosas y el crecimiento de las fibras (Levi-Montalcini, 1952; Levi-Montalcini y Hamburger, 1953).

Estancia en Río de Janeiro

Por aquel entonces, Rita y Hamburger, ya eran conscientes de que, para continuar este fascinante descubrimiento, que, en palabras de la propia Rita, aun despertaba entre sus colegas más perplejidad que interés, era necesario identificar la naturaleza del factor y sus mecanismos de acción. Así pues, decidieron inyectar en los embriones extractos químicos del tumor y observar si estos producían los mismos efectos que vieron al trasplantar el propio tumor en el embrión. La ausencia de respuesta les hizo pensar en la importancia de aislar e identificar correctamente el factor. Para ello, Rita pensó en la conveniencia de utilizar células en cultivo en lugar de embriones, una técnica que ya había empleado con la supervisión de Hertha Meyer, quien ahora desarrollaba su investigación en Río de Janeiro. Hamburger consiguió que la Fundación Rockefeller le financiara una estancia de tres meses en Río a finales del verano de 1952. Rita aprovechó el viaje para visitar a su familia en Turín y, de allí, volar a Brasil llevando escondidos durante el trayecto dos ratoncitos blancos con los injertos del S180.

En sus primeros experimentos *in vitro*, los resultados no fueron los esperados: las muestras del S180 tomadas de los ratones y cultivadas junto a los ganglios sensitivos y simpáticos de embriones de pollo no estimulaban su desarrollo. Abatida por estos resultados negativos, Rita puso sus últimas esperanzas en probar el efecto de los tumores trasplantados en pollo, en lugar de ratón, que eran los que había utilizado para sus experimentos en Saint Louis. Los resulta-

dos fueron asombrosos: de los ganglios sensitivos y simpáticos cultivados con fragmentos del S180 injertados en embriones de pollo había emergido un tupido halo de fibras nerviosas (Levi-Montalcini *et al.*, 1954). La euforia de Rita sobre el descubrimiento de este factor tumoral se vio empañada cuando, al cultivar los ganglios junto con tejido no neoplásico de ratón, vio que (aunque en menor grado) también se inducía el crecimiento de las fibras nerviosas. Finalmente, Rita decidió aparcar el “efecto ratón” y centrarse en el “efecto tumor” para indagar en la naturaleza del factor de crecimiento producido por las células tumorales.

El descubrimiento de NGF

Justo antes de volver a Saint Louis, Hamburger le comunicó a Rita la necesidad de montar un laboratorio de cultivos celulares y de contratar a una persona con conocimientos en Bioquímica para poder seguir investigando sobre el factor tumoral. El elegido fue Stanley Cohen, hijo de rusos americanos emigrados a América, y doctor en Bioquímica por la Universidad de Michigan pero que, según sus propias palabras, sabía más bien poco de neuroembriología. Esto pareció no importarle a Rita que, desde el primer momento, confió en Cohen y que años más tarde llegaría a afirmar lo afortunada que se sentía de que su camino y el de Cohen se hubieran cruzado.



Figura 1. Rita Levi-Montalcini en su laboratorio de la Universidad de Washington en St Louis (a la izquierda y arriba alrededor de 1959; abajo en 1963). Imágenes cedidas por los archivos de la Bernard Becker Medical Library, Washington University School of Medicine.

En sus primeros experimentos juntos, Rita y Cohen utilizaron homogeneizados del tumor libres de células y vieron que se producía el mismo efecto en los ganglios simpáticos en cultivo que aquéllos observados por Rita en los expe-

rimentos de Brasil. A partir de este homogeneizado, Cohen fue capaz de aislar una molécula, cuyas características eran parecidas a las de una nucleoproteína (Cohen *et al.*, 1954). A esta molécula, aún desconocida, la denominaron factor del crecimiento nervioso; el famoso NGF.

Del escepticismo a la aceptación del factor de crecimiento

El descubrimiento del NGF representaba un hallazgo extraordinario, ya que cambiaba por completo la interpretación de los mecanismos que gobiernan el desarrollo y diferenciación del sistema nervioso. Su reconocimiento por la comunidad científica se resistía ya que, según la hipótesis aceptada en la época, el programa de diferenciación celular estaba determinado en los genes. Por primera vez se observaba el papel trófico de un factor soluble, clave en la supervivencia celular que, secretado por células no nerviosas, ejercía su efecto sobre el sistema nervioso autónomo, lo que resultaba francamente difícil de asimilar.

Inicialmente, Rita y Cohen desconocían si la actividad del factor soluble aislado de las células tumorales la desarrollaba todo el complejo nucleoproteico o tan sólo uno de sus componentes, el ácido nucleico o la proteína. Al utilizar veneno de serpiente para digerir la fracción de ácido nucleico y obtener la fracción proteica, comprobaron con sorpresa que los efectos del NGF se multiplicaban, pero también en las muestras control, en las que solamente se había aplicado el veneno de serpiente (Cohen y Levi-Montalcini, 1956). De aquellos experimentos concluyeron que el NGF era de naturaleza peptídica y que, además, estaba presente en altas concentraciones en el veneno de serpiente. La curiosidad los llevó a analizar un órgano con ciertas semejanzas al productor del veneno de serpiente, las glándulas submandibulares de ratón macho adulto, y su sorpresa fue mayúscula cuando comprobaron su enorme capacidad para estimular el crecimiento de fibras nerviosas en el ensayo *in vitro* y confirmar, posteriormente, su alto contenido en NGF. Estos datos invalidaron definitivamente la hipótesis de que los efectos del factor tumoral utilizado en experimentos anteriores eran debidos a una infección viral, como sostenían en la época numerosos científicos escépticos. Asimismo, explicaba el “efecto ratón” que trajo de cabeza a Rita en sus experimentos de Río: los tejidos de ratón, aunque en menor medida que las glándulas salivales, son capaces de sintetizar y secretar NGF. Las glándulas de ratón representarían una fuente del factor de crecimiento para los estudios posteriores, a la vez que planteaban nuevos enigmas acerca de su papel biológico.

A finales de los años 50, Cohen preparó un anticuerpo anti-NGF que, al ser inyectado en embriones de pollo de 3 días, impedía el desarrollo normal de los ganglios simpáticos, confirmando definitivamente el papel clave del NGF endógeno en el desarrollo, así como su papel trófico sobre las neuronas del sistema simpático (Levi-Montalcini y Booker, 1960). El desarrollo de esta herramienta, que permitía analizar los efectos del bloqueo además de la administración, abrió un periodo sumamente productivo y estimulante, en el que realizaron notables progresos encaminados a desentrañar su actividad biológica y sus mecanismos de acción (Levi-Montalcini, 1964; Levi-Montalcini y Booker, 1960a, 1960b).

La colaboración de Rita y Stand Cohen duró 6 años de trabajo intenso y muy satisfactorio para ambos, en los que también identificaron el segundo factor de crecimiento, el EGF o factor de crecimiento epidérmico (Cohen, 1962), al que Stand Cohen dedicó su carrera investigadora. Tal y como le dijo el propio Stand: “Rita, tú y yo, por separado somos buenos, pero juntos somos maravillosos”.

La progresión del NGF: de factor neurotrófico a integrador de la respuesta homeostática

Tras la marcha de Stand Cohen de la Universidad de Washington, Pietro Angeletti entró a formar parte del equipo de Rita como experto bioquímico. Su colaboración fue duradera y permitió a Rita, a principios de los años 60, realizar un cambio personal muy apetecido: fundar en Italia un laboratorio para compaginar su trabajo en USA con largas estancias en su país, cerca de su familia, a la que se sentía muy unida. La fundación en Roma del Laboratorio de Neurobiología, posteriormente Laboratorio de Biología Celular del Consejo Nacional de Investigación Italiano, creó un nuevo foco de investigación en NGF en el que participaron numerosos investigadores italianos. Durante años Rita y Angeletti se alternaron en la dirección de ambos laboratorios, el americano y el italiano, que funcionaban de forma coordinada. Sus objetivos principales eran, por un lado, la identificación de la estructura de NGF, sus receptores y su mecanismo de acción y, por otro, el conocimiento de sus dianas celulares y sus funciones biológicas. La dirección de la primera tarea recayó en Pietro Calissano, encargándose Rita y Luigi Aloe del estudio funcional.

Durante ese periodo se identificó la secuencia aminoacídica del NGF, formado por dos subunidades de 118 aminoácidos (Hogue-Angeletti y Bradshaw, 1971) y, años después, también fue identificado el gen que lo codifica (Scott et al., 1983) El estudio de los receptores de NGF resultó más complejo, ya que su biodisponibilidad es mucho más reducida. El primer receptor identificado fue el receptor de baja afinidad p75, de la familia de los receptores asociados a proteínas G, cuya ausencia no parecía tener ninguna consecuencia en el desarrollo. Los mecanismos de acción de NGF comenzaron a estudiarse utilizando células tumorales de un feocromocitoma, el PC12, que resultan relativamente sencillas de cultivar y sufren diferenciación neuronal en respuesta a NGF, pero los progresos fueron lentos. El descubrimiento posterior de que existen otras dianas celulares para NGF fuera del sistema nervioso complicaba aún más la comprensión del mecanismo ya que, como explicaba Rita, una única molécula señal, el NGF, es capaz de promover la supervivencia o la diferenciación cuando actúa sobre una neurona o una célula tumoral, pero provoca la liberación de histamina cuando actúa sobre un mastocito (Levi-Montalcini, 1993). La diversidad de los efectos sólo podía deberse a la capacidad del receptor para activar diferentes rutas o a la existencia de distintos receptores, lo que fue descartado durante años. No fue hasta la década de los 90 cuando se identificó y clonó el receptor de alta afinidad -TrkA- de la familia de receptores tirosin-kinasas, presumiblemente responsable de la mayoría de las funciones de NGF.

Por lo que respecta al estudio funcional, la actividad trófica del NGF había quedado claramente demostrada desde los primeros experimentos, pero nuevos ensayos *in vivo* e *in vitro*, revelaron que el gradiente de concentración de NGF es capaz de guiar la direccionalidad del crecimiento de las fibras nerviosas, lo que confirmaba la sospecha del siempre inspirado Ramón y Cajal, de la existencia de factores quimiotácticos. Además, ensayos realizados en embriones de pollo y ratón, mostraron que NGF provocaba la diferenciación de todas las células de la cresta neural hacia células nerviosas simpáticas, evitando la formación de células cromafines, lo que demostraba que, además de ser un factor de supervivencia con propiedades quimiotácticas, es también un factor de diferenciación (Levi-Montalcini y Aloe, 1980). Estas tres funciones identificadas en NGF (trófica, quimiotáctica y diferenciadora), son características de todos los factores de crecimiento descubiertos a partir de entonces, y representaron en su día una magnífica revelación.

La búsqueda de otras dianas celulares de NGF fuera del sistema nervioso autónomo se inició entre poblaciones neuronales en el sistema nervioso central (SNC), centrándose en neuronas adrenérgicas por su mayor similitud con las dianas entonces conocidas de NGF, y fue abandonada sin resultados. Casi tres décadas después, a finales de los años 80, se identificaron en el SNC poblaciones de células colinérgicas, localizadas en centros cognitivos, que responden a NGF (Levi-Montalcini, 1987). La posibilidad de que la degeneración que sufren esos núcleos cerebrales en las demencias seniles, en particular en el Alzheimer, pudiera ser prevenida o revertida por el suministro de NGF, supuso un avance de las posibilidades terapéuticas que se han ido desarrollando en torno a este factor de crecimiento y fue una de las líneas de investigación más productivas del equipo de Rita (revisado por Aloe *et al.*, 2012).

Un nuevo paso adelante se produjo cuando tras la inoculación intrauterina de anticuerpos anti-NGF durante el desarrollo embrionario o tras el suministro de NGF exógeno en ratones recién nacidos, los investigadores del equipo de Rita observaron que el NGF no sólo es esencial para el desarrollo del sistema nervioso, sino también en la formación del tiroides, el timo y otros órganos (Aloe *et al.*, 1981). Eso ampliaba el espectro de acción de la neurotrofina, indicando un papel más amplio, no limitado al sistema nervioso. La contribución de Rita fue esencial para documentar la capacidad de NGF para estimular la activación, supervivencia y proliferación de los mastocitos, células del sistema inmune consideradas de segundo orden (Aloe *et al.*, 1994; Aloe y Levi-Montalcini, 1977). Estudios posteriores confirmaron que numerosas glándulas endocrinas y otras células del sistema inmune, incluyendo los linfocitos B y T, también son dianas de NGF, cuya actividad abarca por igual el sistema nervioso, el endocrino y el inmunitario, los tres sistemas encargados de la homeostasis. Esta actividad transforma la consideración de NGF, ya que, más que una neurotrofina, debe considerarse una citoquina (Levi-Montalcini *et al.*, 1996). Tal y como cuenta Rita en su autobiografía (Levi-Montalcini, 1988), le satisfacía profundamente haber llegado a descubrir el papel clave de esta citoquina en el control homeostático del organismo a través de dos “personajes periféricos”, las neuronas simpáticas y los mastocitos,

“hermanos menores” del sistema nervioso y el inmune respectivamente. Dada la implicación de los mastocitos en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, en el laboratorio de Rita centraron su atención en el papel del NGF y los mastocitos en enfermedades como la esclerosis múltiple, la artritis reumatoide o el lupus eritematoso (Leon *et al.*, 1994).

Otra satisfacción del final de su carrera consistió en descifrar el significado de la presencia de NGF en el veneno de serpiente y las glándulas submandibulares de ratón macho, que tan intrigante resultó durante décadas. En el veneno de serpiente el NGF parece servir como vehículo para que las toxinas que contiene consigan entrar a las células que expresan receptores para NGF. Respecto a las glándulas salivares, se observó que los ratones macho sometidos a aislamiento, liberan a la sangre el NGF que acumulan, sugiriendo una relación con la agresividad y los mecanismos de respuesta al estrés (Aloe *et al.*, 1986). Para comprobar su hipótesis se analizó el contenido de NGF en sangre de soldados que realizaban su primer salto en paracaídas, confirmando que los niveles de NGF aumentaban un 84% antes del lanzamiento y se disparaban un 107 % adicional 20 minutos después del aterrizaje (Aloe *et al.*, 1994). La liberación de NGF ligada al estrés actúa como mecanismo activador de las defensas inmunitarias y neuroendocrinas (Levi-Montalcini, 1993). Para su satisfacción, lo que empezó siendo una historia marginal, que explicaba el crecimiento de algunas fibras nerviosas, acabo mostrándose como un mecanismo integrador de los tres sistemas que conforman una única red homeostática. El perfecto broche para una investigadora como ella, con una visión integradora, extraordinariamente capaz de conectar y asociar datos dentro del caos y cuyo hilo conductor fue siempre el deseo de explicar.

La implicación de NGF en los tres sistemas, así como en las células epiteliales, los adipocitos, los cardiomiocitos, su relación con las enfermedades degenerativas, la reparación de heridas, los mecanismos del dolor, la angiogénesis, la fertilidad o el estado de enamoramiento, amplían cada día el espectro de funciones vitales relacionadas con el NGF, así como el de las patologías que pueden beneficiarse de terapias basadas su manejo y el de sus vías de señalización (ver por ejemplo la reciente revisión de Wise *et al.*, 2020).

Durante casi 30 años desde el descubrimiento del NGF, el grupo liderado por Rita Levi-Montalcini se dedicó a su estudio prácticamente en solitario, pero la importancia de los hechos demostrados, especialmente tras la concesión del premio Nobel, atrajo la atención de numerosos equipos de investigación. Curiosamente, el desembarco de tantos investigadores independientes en “su” campo, no fue bien acogido por Rita, que veía con frustración cómo tenía que lidiar con problemas burocráticos y limitaciones de presupuesto en el laboratorio italiano, mientras que otros laboratorios mejor equipados progresaban a mejor ritmo. Tras un breve periodo de rechazo y escepticismo, aceptó de buen grado las nuevas contribuciones al conocimiento del NGF.

Aunque formalmente en 1979 tuvo que dejar la dirección del Laboratorio de Biología Celular que había fundado, por alcanzar el límite de edad legal, Rita siempre siguió trabajando y con más de 100 años continuó asistiendo a diario al Europe Brain Research Institute que fundó en 2002. Su última dedica-

ción abordaba el estudio de los orígenes evolutivos del NGF junto con jóvenes investigadores que exploraron su presencia en invertebrados y que consideraban muy inspiradores sus consejos y conversaciones. Su larga carrera investigadora, ligada al estudio del NGF, es el perfecto ejemplo de cómo la embriología experimental, basada en la observación microscópica de los fenómenos, progresó hacia una auténtica biología del desarrollo, integrando numerosas disciplinas y abordajes experimentales.

Rita Levi-Montalcini, una personalidad única

Rita Levi-Montalcini era apasionada y tenaz, optimista y joven. Todos sus colaboradores coinciden en el entusiasmo y dedicación de su maestra. Como relata la revista *Nature* con ocasión de su centenario, durante las décadas en que su investigación fue más intensa, Rita requería a sus colaboradores para discutir sobre el curso de la investigación a horas intempestivas, con una actitud y un ritmo de trabajo que resultaba inspirador para algunos y difícil de seguir para otros. Su pupila durante los años 70 Ruth Hogue Angeletti, se consideraba muy afortunada por trabajar con una mentora tan brillante, expansiva y generosa de espíritu y decía no conocer a nadie con la misma clase de dedicación al trabajo (“Nobel laureate celebrates her centenary” 2009).

Pero Rita no sólo destacaba por su forma de trabajar, sino por su extraordinaria personalidad. Era exigente, pero cercana, disfrutaba del trato abierto y directo con los jóvenes investigadores y rechazaba la distancia entre profesores y estudiantes propia de la universidad italiana de la segunda mitad del siglo XX (“llámame Rita” decía a quien se dirigía a ella de forma más protocolaria). Su aspecto menudo y vivo llamaba también la atención por su impecable vestuario, siempre perfectamente peinada, enjoyada y con trajes a medida, era conocida en el laboratorio de EE. UU. como “la reina de Italia”. Era elegante en sus modales y tenía un refinado gusto musical y artístico, que cultivó de forma especial gracias a su estrechísima relación con su hermana Paola, dedicada al arte casi con la misma pasión que Rita a la ciencia. Su motivación siempre fue el conocimiento y no el reconocimiento o los honores, que por otra parte llegaron desde muy diversos ámbitos.

El primer gran reconocimiento fue la concesión, junto con Stand Cohen del premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1986, siendo la cuarta mujer de la historia en obtenerlo. Según la relación de motivos del Nobel “el descubrimiento del NGF es un perfecto ejemplo de cómo un agudo observador puede crear conceptos a partir de un aparente caos”. La proyección que supone un premio de estas características la dio a conocer fuera del mundo científico y le permitió cumplir uno de sus anhelos: contribuir a la educación de las mujeres de países africanos para mejorar sus posibilidades de desarrollo. Para ello creó junto con su hermana Paola, la “Rita Levi Montalcini Foundation”, a la que dedicó gran parte de la dotación económica del premio.

En 2001 fue nombrada senadora vitalicia de la república italiana y, fiel a su personalidad, lo tomó como un deber y acudió al senado regularmente hasta su muerte, participando activamente en los debates y votaciones. Su voto

fue decisivo, por ejemplo, para la aprobación de los presupuestos presentados en 2006 por el gobierno de Romano Prodi, quien se vio obligado a mantener una partida dedicada a la ciencia que había previsto suspender. Su compromiso personal con la ciencia, la educación, la juventud o las mujeres, quedó reflejado en sus propuestas legislativas y en su producción literaria. Escribió 21 libros -al final de su vida con la ayuda de su colaboradora Giuseppina Tripodi- dedicados a explicar la historia de NGF, sus ideas sobre educación o feminismo, su actitud vital ante el envejecimiento, que, en sus propias palabras, afectaba a su cuerpo, pero no a su mente, o su propia biografía, que humildemente tituló “Elogio de la imperfección”.



Figura 2. Rita Levi Montalcini, con 98 años, desarrollando una ponencia en el International NGF meeting: Katzir Conference on Life and Death in the Nervous System, en Israel (arriba); con 99 años en el acto de investidura como doctora honoris causa por la Universidad Complutense de Madrid (dcha.), y durante la celebración de su centenario (izda.). Imágenes, respectivamente, bajo licencia Creative-Commons, cedida por la Universidad Complutense de Madrid y propiedad de la “Presidenza della Repubblica Italiana”

“Si muero ahora o en un año, es lo mismo: lo que importa es el mensaje que dejas detrás de ti. Es la única forma de evitar que tu paso por la tierra se evapore en una gran nada” Con 103 años, el 30 de diciembre de 2012, Rita falleció en

Roma y miles de personas acudieron a honrar su memoria. La huella de su paso por la tierra ha sido profunda, no sólo por su contribución al avance del conocimiento, sino por su extraordinaria e inspiradora personalidad.

Bibliografía

- Aloe, L., Alleva, E., Böhm, A. y Levi-Montalcini, R. 1986. Aggressive behavior induces release of nerve growth factor from mouse salivary gland into the bloodstream. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 83:6184–6187.
- Aloe, L., Bracci-Laudiero, L., Alleva, E., Lambiase, A., Micera, A. y Tirassa, P. 1994. Emotional stress induced by parachute jumping enhances blood nerve growth factor levels and the distribution of nerve growth factor receptors in lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 91:10440–10444.
- Aloe, L., Cozzari, C., Calissano, P. y Levi-Montalcini, R. 1981. Somatic and behavioural postnatal effects of fetal injections of nerve growth factor antibodies in the rat. *Nature*, 291:413–415.
- Aloe, L. y Levi-Montalcini, R. 1977. Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res.*, 133:358–366.
- Aloe, L., Rocco, M.L., Bianchi, P. y Manni, L. 2012. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. *J. Transl. Med.*, 101(10)1–15.
- Cohen, S. 1962. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J. Biological Chem.*, 237:1555-1562.
- Cohen, S. y Levi-Montalcini, R. 1956. A nerve growth-stimulating factor isolated from snake venom. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 42:571.
- Cohen, S., Levi-Montalcini, R. y Hamburger, V. 1954. A nerve growth-stimulating factor isolated from sarcomas 37 and 180*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 40:1014-1018.
- Hamburger, V. 1934. The effects of wing bud extirpation on the development of the central nervous system in chick embryos. *J. Exp. Zool.*, 68:449–494.
- Hogue-Angeletti, R. y Bradshaw, R. 1971. Nerve growth factor from mouse submaxillary gland: amino acid sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 68, 2417–2420.
- Leon, A., Buriani, A., Dal Toso, R., Fabris, M., Romanello, S., Aloe, L. y Levi-Montalcini, R., 1994. Mast cells synthesize, store, and release nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 91:3739–3743.
- Levi-Montalcini, R. 1952. Effects of mouse tumor transplantation on the nervous system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 55:330–344.
- Levi-Montalcini, R. 1964. Growth control of nerve cells by a protein factor and its antiserum. *Science*, 143:105–110.
- Levi-Montalcini, R. 1987. The nerve growth factor 35 years later. *Science*, 237:1154–1162.
- Levi-Montalcini, R. 1988. Elogio de la imperfección. Booket Ciencia. ISBN: 9788490660829
- Levi-Montalcini, R. 1993. NGF: hacia una nueva frontera en la neurobiología. Alianza Editorial, Madrid. ISBN: 84-206-2763-1
- Levi-Montalcini, R. y Aloe, L. 1980. Tropic, trophic, and transforming effects of nerve growth factor. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.*, 25:3–15.

- Levi-Montalcini, R. y Booker, B. 1960a. Destruction of the sympathetic ganglia in mammals by an antiserum to a nerve-growth protein. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 46:384–391.
- Levi-Montalcini, R. y Booker, B. 1960b. Excessive growth of the sympathetic ganglia evoked by a protein isolated from mouse salivary glands. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 46:373–384.
- Levi-Montalcini, R. y Levi, G. 1942. Les conséquences de la destruction d'un territoire d'innervation périphérique sur le développement des centres nerveux correspondants dans l'embryon de poulet. *Arch. Biol.*, 53:537–545.
- Levi-Montalcini, R. y Levi, G. 1943. Recherches quantitatives sur la marche du processus de différenciation des neurones dans les ganglions spinaux de l'embryon de poule. *Arch. Biol.*, 54:189–206.
- Levi-Montalcini, R. y Hamburger, V. 1951. Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J. Exp. Zool.*, 116:321–361.
- Levi-Montalcini, R. y Hamburger, V. 1953. A diffusible agent of mouse sarcoma, producing hyperplasia of sympathetic ganglia and hyperneurotization of viscera in the chick embryo. *J. Exp. Zool.*, 123:233–287.
- Levi-Montalcini, R., Meyer, H. y Hamburger, V. 1954. In vitro experiments on the effects of mouse sarcomas 180 and 37 on the spinal and sympathetic ganglia of the chick embryo. *Cancer Res.*, 14:49–57.
- Levi-Montalcini, R., Skaper, S.D., Dal Toso, R., Petrelli, L. y Leon, A. 1996. Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokine. *Trends Neurosci.*, 19:514–520.
- Nobel laureate celebrates her centenary. 2009. *Nature*, 458:1090–1090.
- Scott, J., Selby, M., Urdea, M., Quiroga, M., Bell, G.I. y Rutter, W.J. 1983. Isolation and nucleotide sequence of a cADN encoding the precursor of mouse nerve growth factor. *Nature*, 302:538–540.
- Strata, P. 2018. Rita Levi-Montalcini and her major contribution to neurobiology. *Rend. Lincei*, 29:737–753.
- Wise, B.L., Seidel, M.F. y Lane, N.E. 2020. The evolution of nerve growth factor inhibition in clinical medicine. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 171(17):34–46.