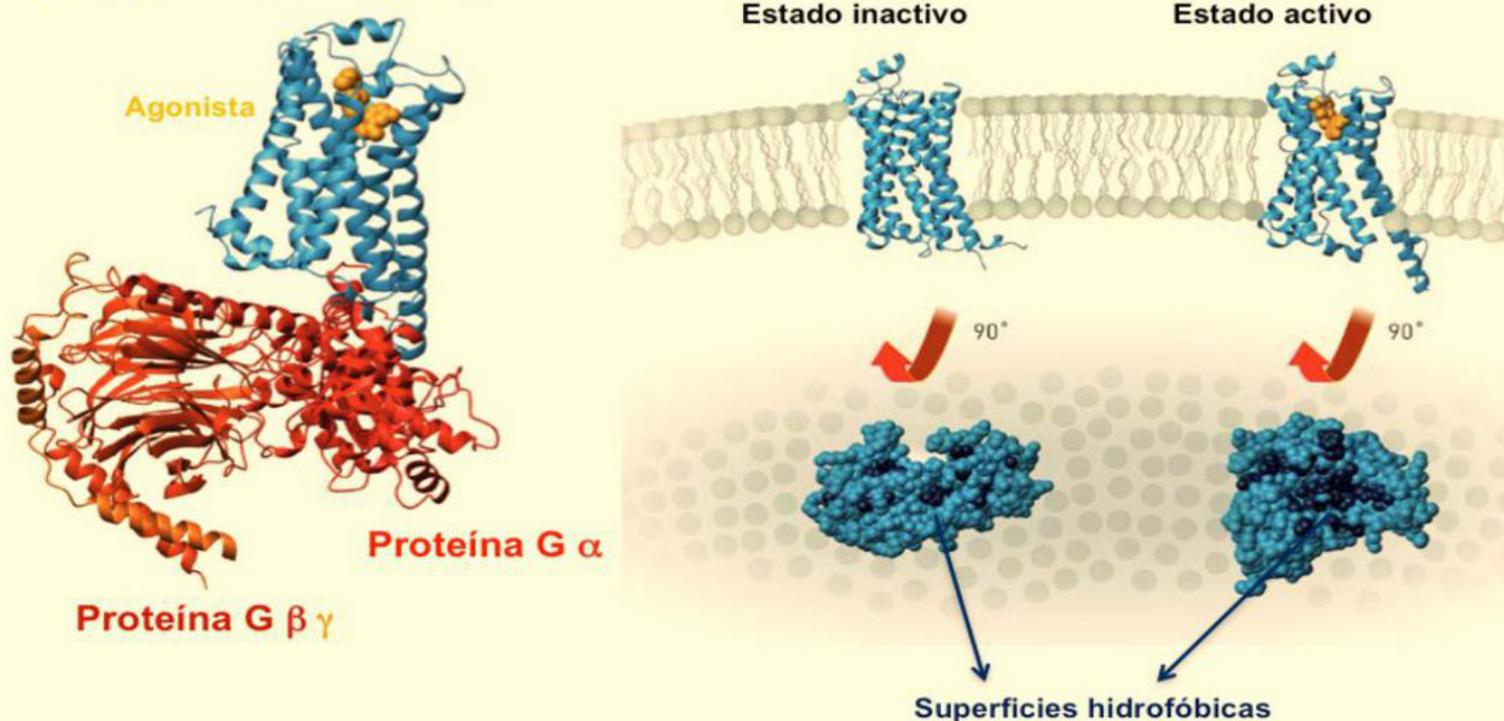


ANALES DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

Volumen 79 | Número 1 | Enero-Marzo 2013 | Páginas 1-171

Receptor beta2-adrenérgico



www.analesranf.com

ISSN 1697-4271



REAL ACADEMIA
NACIONAL DE
FARMACIA



Instituto
De España



Ministerio de
Educación
Cultura y Deporte

Toma de posesión del Excmo. Sr. D. Mariano Esteban como Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia

Antonio L. Doadrio

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

El pasado 17 de enero de 2013, tuvo lugar la sesión inaugural del curso 2013 de la Real Academia Nacional de Farmacia, priorizando la toma de posesión de D. Mariano Esteban como nuevo Presidente de la misma; sucediendo así en el cargo a Doña María Teresa Miras Portugal. En la mesa presidencial acompañando al nuevo Presidente de la RANF, estuvieron: la Secretaria de Estado de Educación, Dña. Montserrat Gomendio y los presidentes de las RR. AA. de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, D. Alberto Galindo y de Medicina, D. Joaquin Poch.

Tanto la presidente saliente, como el entrante, pronunciaron sendos discursos, que por su interés reproducimos a continuación.

Intervención de la presidente saliente Dña. M^a Teresa Miras Portugal

Excelentísimas Señoras y Señores Académicos, autoridades, compañeros y amigos:

Hace exactamente seis años, el 18 de enero de 2007, ustedes me confiaban el honor de presidir la Real Academia Nacional de Farmacia. Sucedió en el cargo a Don Juan Manuel Reol, presidente carismático, querido y respetado, que realizó una gran labor y del que guardamos imborrable recuerdo. Al elegirme hacían recaer en mi persona la responsabilidad de saber estar a la altura de los que me habían precedido en un cargo tan exigente y prestigioso. Ahora que finaliza el segundo mandato y estatutariamente el último para el que ustedes me reeligieron, miro hacia atrás y veo la inmensa suerte que he tenido y hay una palabra que resume todo: gracias. Les doy las gracias por su apoyo, por sus consejos, por estar siempre ahí, gracias por que entre todos hemos conseguido sentir la Real Academia como algo propio, como una obra común de las que nunca se acaban, ya que su destino es siempre el futuro pero tomando impulso en el pasado.

Nuestra Academia no es ajena a la realidad social y económica por la que está pasando nuestro país, pero la memoria y vivencias atesoradas por sus miembros nos asegura que si pensamos que cualquier tiempo pasado fue mejor, estamos cometiendo un grave error. La realidad es que cada tiempo tiene sus retos

y la primera dificultad es identificarlos y hacerlos visibles, solo de ese modo se puede encarar el futuro y avanzar con una cierta garantía.

Sea cual sea la época que nos ha tocado vivir, el primer reto de una Real Academia es pulsar el presente para dirigir y canalizar el futuro y ese cometido requiere que todos los académicos nos sintamos tripulantes de una nave vigorosa guiada por el ímpetu del conocimiento y la prudencia de la sabiduría.

Como toda institución creada y regida por los seres humanos, el segundo de sus grandes retos es la necesidad de una renovación constante y la de incorporar a su seno a los más prestigiosos científicos y estudiosos, en nuestro caso de las ciencias de la farmacia y afines, que recojan el testigo de los que van partiendo. Este es el compromiso intelectual de la Academia con la excelencia, el que le da vigor y prestigio. Quiero recordar en este acto a quien nos ha dejado en el año 2012: el Prof. Gaspar González, prestigioso profesor y científico cuyo magisterio pertenece al acervo de nuestra academia.

Como Real Academia Nacional de Farmacia nos enfrentamos a un tercer gran reto: Sentir el latido de la sociedad a la que servimos, haciendo difusión de los logros y avances en ciencias de la vida y la salud, sirviendo de lugar de encuentro y debate del conocimiento básico y aplicado que redunde en mejora de la salud humana. Que sus problemas sean nuestros y que no permanezcamos alejados de lo que nos da sentido. No sirve en nuestra época lo que se esconde y se entierra, lo que se hurta a un entorno que ahora más que nunca necesita de inteligencia, voluntad, dedicación y absoluta honestidad. Grandes cualidades en las que abunda nuestra Academia.

Parafraseando a Don Francisco de Quevedo: *Ayer se fue; Mañana no ha llegado*. El pasado 20 de diciembre de 2012, la Junta General eligió a D. Mariano Esteban Rodríguez como nuevo Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia, en buena lid entre dignísimos candidatos. Podemos darle la vuelta a la frase y decir: *Mañana ya ha llegado; ayer se fue*. Este es el nuevo reto, el número 4, en el que la Academia ha decidido y confía su presidencia, a un eminente científico, castellano recio de Valladolid. El toque galaico, tan necesario en esta época, lo obtuvo realizando la licenciatura y el doctorado en Farmacia en la Universidad de Santiago de Compostela, cuando la facultad se alojaba en el nostálgico y monumental Palacio de Fonseca. La ciudadanía del mundo la obtuvo con su prolongada estancia de 22 años en los mejores centros de investigación entre otros el MRC - Centro de Investigaciones Médicas de Londres- ; la Facultad de Medicina de la Universidad de Nueva York, donde fue Profesor de los Departamentos de Bioquímica y de Microbiología e Inmunología. Toda la experiencia acumulada le sirve a su vuelta a España para dirigir con gran acierto el nuevo Centro Nacional de Biotecnología (CNB) del CSIC, tarea que realiza durante 11 años. Su trabajo de investigación centrado en el conocimiento de la biología molecular de agentes

patógenos como los virus y otros microorganismos, le ha proporcionado renombre mundial, y ha servido para generar vacunas para la erradicación de la viruela y las bases para futuras vacunas contra Sida, Malaria y Leishmania. Investigador seleccionado por las fundaciones más prestigiosas, como la Ramón Areces, Marcelino Botín y Bill y Melinda Gates; ha sido también elegido como miembro en organizaciones mundiales tan importantes como la European Science Foundation (ESF).

Estas cualidades, unidas a su carácter afable, su capacidad de trabajo, su intuición del entorno y la capacidad de superación en los momentos más difíciles, hacen que me sienta orgullosa por la decisión de esta Real Academia. Ciertamente en su persona coinciden los mejores augurios para los cuatro retos anunciados.

Permítanme, como colofón, que cite un párrafo de don Santiago Ramón y Cajal extraído de su libro titulado: Reglas y consejos sobre investigación científica.

“Se ha dicho que la Ciencia no tiene patria, y eso es exacto, mas como contestaba Pasteur en ocasión solemne, los sabios sí que la tienen. El conquistador de la Naturaleza no solamente pertenece a la Humanidad, sino a una nación que se honra con sus triunfos y a una región que le considera como fruto selecto de su terruño”.

Me gustaría añadir que también pertenece a una Academia que lo considera como un acervo de la excelencia que atesora como Institución.

Sr. Presidente, le deseo lo mejor en su mandato y sé por experiencia que todos los Académicos estaremos a su lado.

Toca ahora despedirme y lo haré dando de nuevo las gracias

En primer lugar a su Majestad el Rey don Juan Carlos I cuyo Alto Patronazgo tenemos en gran estima.

Al Ministro de Educación y al Secretario de Estado pues de ellos depende nuestra institución.

Al Instituto de España y Reales Academias que a él pertenecen, de modo muy especial por los intereses comunes a la Real Academia de Medicina y la Real Academia de Ciencias.

A las Academias de Farmacia de las autonomías españolas, ha sido un privilegio haber compartido intereses y objetivos comunes en la defensa de las ciencias farmacéuticas. No podría olvidar a las Academias de Farmacia Iberoamericanas, pues el ancho mar no existe cuando se han establecido tantos lazos de afecto y buen entendimiento.

Al mundo de la Sanidad y sus instituciones, especialmente la Dirección General de Farmacia y la Agencia Española del Medicamento, sin olvidar las

Instituciones Colegiales de la profesión farmacéutica y sus diversas y variadas asociaciones.

A La fundación José Casares Gil de Amigos de la Real Academia Nacional de Farmacia, a sus patronos, empresas y laboratorios farmacéuticos que han sido nuestros benefactores y una especial mención a los cargos de Vicepresidente y Secretario, por su continuada, eficaz y generosa labor.

A todos aquellos Académicos que durante mi presidencia ocuparon cargos en la Junta de Gobierno y en la Presidencia de las distintas secciones.

A todo nuestro personal de administración, por su trabajo y lealtad con la Academia.

Sobre todo y desde lo profundo de mi alma gracias a mi familia, a mi esposo Fernando y mis hijos Fernando y Alberto, quienes siempre me han ayudado y animado en estos años de presidencia, en los que no han faltado los altibajos de todo tiempo humano. Echando de menos no visitar con mayor frecuencia mi pueblo gallego, donde tengo la suerte de poder abrazar a mi madre y donde en un pequeño lugar crecen los árboles que planté, como diría Rosalía: No lejos, en soto profundo de robles, en donde el silencio sus alas extiende. Ahí tengo mi fuente de energía y mi lugar de reflexión.

Finalmente, gracias a todos ustedes los Académicos de la Real Academia Nacional de Farmacia, por su magisterio, su afecto y su delicadeza, no puede extrañarles que les aprecie, les admire, les respete y les tenga un profundo cariño. Por favor cuiden al nuevo Presidente como han cuidado de mí.

Discurso de toma de posesión del Excmo. Sr. D. Mariano Esteban Rodríguez

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento a la Presidente saliente Excm. Sra. D^a María Teresa Miras Portugal por esa salutación brillante y buenas palabras hacia mi persona, y destacar en estos momentos en los que su mandato termina la magnífica actividad académica y científica que ha ejercido durante estos seis años de Presidente de la RANF, habiendo situado a la Academia en las cotas más altas entre las Reales Academias. Ni que decir tiene que esto representa un gran reto al Presidente entrante.

En segundo lugar quiero agradecer a todos los miembros de la RANF por su confianza para que este castellano de Tierras de Campos tome las riendas de esta ilustre corporación durante el siguiente mandato. Sus sabios consejos me ayudarán a avanzar en todos los frentes en los que la RANF ejerce su función institucional y a la que han contribuido todos los anteriores Presidentes y Académicos desde los inicios de nuestra Sociedad (les sugiero leer el magnífico libro Historia de la RANF por nuestro Académico Excmo. Sr D. Javier Puerto Sarmiento en la página Web de la Academia, www.ranf.com). En tercer lugar

quiero agradecer a mi familia, mi mujer M^a Victoria e hijos, Julia y Jorge, así como a mis hermanos y parientes por tenerles cerca y saber que en todo momento podrán hacer mas llevadero y alegre el largo camino que representa la vida misma con sus quehaceres diarios, unos mejores y otros peores, pero que con la máxima que me dieron en mi época de interno durante el bachillerato en los HH. Maristas de Palencia "*Mariano, siempre adelante*" podré ir superando los obstáculos que se presenten. También quiero agradecer a todos los investigadores, nacionales e internacionales, que durante tantos años han contribuido a que, como el buen vino, este castellano que os habla fuera madurando y haciéndose mejor como persona y científico, y muy especialmente a los que día a día en mi laboratorio del CNB-CSIC hacen posible que sigamos al frente en la investigación de vacunas contra distintas enfermedades.

Quiero a continuación, sobre todo para aquellos de ustedes menos familiarizados con la RANF , mencionarles que los fines de esta Institución que vela por el medicamento y la salud, como se recoge en su página Web, son:

- Fomentar la investigación y el estudio de las Ciencias Farmacéuticas y sus afines.
- Asesorar al Gobierno de la Nación, Administraciones públicas, Organismos públicos, Agencia Española del Medicamento, agencias científicas y tecnológicas y a cuantas instituciones públicas o privadas lo soliciten, en todo lo que se refiera a las Ciencias Farmacéuticas y al Medicamento, y cuanto se relacione con ellas y con la promoción de la Salud.
- Elaborar informes o dictámenes sobre las materias que le son propias.

Dicho esto quiero plantear ahora, ¿que retos tenemos al frente?

Indudablemente estamos inmersos en una crisis económica muy seria que nos afecta a todos, pero que sabremos superar como ha sido siempre a lo largo de la historia. No obstante, la crisis nos obliga a sacrificios no deseados en la utilización de los recursos que nos son propios y a buscar con ahínco fuentes complementarias de financiación. Por ello quiero agradecer al personal de apoyo de la Academia su conducta ejemplar para soportar estas dificultades. La búsqueda de nuevos recursos será uno de nuestros objetivos.

Siendo función de la Academia el fomento de la investigación y estudio de las Ciencias Farmacéuticas, otro objetivo es mantener y promover la divulgación de estas actividades científicas, a través de conferencias, mesas redondas, simposios, cursos, todos dados por Académicos y expertos del sector científico y empresarial, como se ha venido ejerciendo con anterioridad y que el Secretario presentará en su comparecencia en el día de hoy.

Las ciencias de la salud avanzan a pasos agigantados, fundamentalmente gracias a los avances de la biología molecular, que nos está permitiendo poder

entender los procesos que ocurren en el interior de las células, su crecimiento y diferenciación, así como entender los agentes causales de patologías como infecciones por virus, bacterias, parásitos, procesos tumorales y de envejecimiento. Las nuevas tecnologías de secuenciación masiva de la información genética, definición ultraestructural de complejos proteicos, el desarrollo de modelos animales con alteraciones específicas de cada uno de sus genes, la manipulación genética de las células troncales (madre), la utilización de sistemas para dirigir la incorporación de genes y proteínas a células específicas del organismo, la reparación de enfermedades genéticas, el desarrollo de nuevas vacunas, y fármacos de diseño con mayor especificidad, están contribuyendo a mejorar la salud de los ciudadanos, fundamentalmente en los países ricos. Tenemos un deber con los países mas necesitados para llevarles nuestros conocimientos y fármacos que les permitan mejorar su salud.

Debo resaltar el ejemplo admirable de la Fundación Bill y Melinda Gates por su generosidad para con los mas necesitados al conceder ayudas económicas para que se investigue en enfermedades que les afectan con virulencia, como el sida, malaria y tuberculosis que producen millones de muertes anuales, mayoritariamente en los países mas pobres. En este sentido la Academia debe de potenciar su compromiso con los mas necesitados aportando su conocimiento (como el que ya ejerce a través del portal de Enfermedades Olvidadas), mediante conferencias como foro de discusión sobre temas de interés, y colaborando con el sector Farmacéutico para el acceso de medicamentos a los mas necesitados. En el compromiso por salvar vidas, mi grupo de investigación ha producido prototipos vacunales contra el VIH/SIDA que han dado buenos resultados en ensayos clínicos realizados en España y otros prototipos que se van a ensayar en fases clínicas mas avanzadas en el continente africano en 2014, donde las tasas de infección y muerte por VIH son muy altas. Para facilitar el acceso gratuito o a coste mínimo de medicamentos y vacunas en los países pobres existen instituciones internacionales (OMS, Global Fund, NIH, Fundación Bill y Melinda Gates y otros) que están ejerciendo una función social admirable al salvar millones de vidas anualmente aplicando estos programas sanitarios de distribución de fármacos y vacunas contra distintas enfermedades.

El fomento de la investigación, que como he mencionado anteriormente es también función de la Academia, es un compromiso de todos y debo resaltar el esfuerzo que España ha hecho durante los últimos 30 años para que nuestra investigación alcance las cotas que le corresponden como país avanzado y que nos ha colocado entre los 10 primeros países del mundo. No obstante, la reciente crisis está agudizando el problema por el que nuestros jóvenes investigadores se ven obligados a marcharse del país, no como alternativa necesaria en la formación del investigador como se ha hecho siempre, si no como necesidad de vivir, lo que

perjudicará la investigación española al menos durante una década. La investigación como tal es la mejor carta de presentación de un país, pues conlleva el prestigio de que lo que hace debe ser bueno, como lo han acreditado los países más avanzados, que lo son en gran medida gracias a su apoyo a la I+D. La disminución de los recursos en el apoyo a la investigación repercutirá negativamente en nuestro sistema sanitario, debilitándole si no se aplican los conocimientos y tecnologías esenciales para curar y mejorar la salud. Hay que tener en cuenta que el desarrollo de un nuevo medicamento requiere de grandes inversiones, con un coste aproximado de unos 1000 millones de dólares desde el inicio del desarrollo hasta salir al mercado en las Farmacias, siendo muy pocos los nuevos medicamentos que se aprueban anualmente por las agencia reguladoras. Pero si queremos mejorar la calidad de vida de los ciudadanos debemos desarrollar nuevos fármacos. Además, la medicina y aplicación de medicamentos se va encaminando cada vez más a lo que se conoce como “tratamiento a la carta”, al conocerse mejor los mecanismos de acción de los fármacos y la respuesta del organismo a los mismos, pues no todos respondemos de igual forma a los medicamentos. Es precisamente en este área sobre medicamentos donde la Academia aporta conocimientos científicos en sus sesiones semanales, mediante conferencias por expertos que tienen lugar todos los jueves, y asesorando a las instituciones que lo requieran.

Hay que seguir adelante y utilizar todo nuestro ingenio para perseverar en ese objetivo de fomento a la investigación en las Ciencias Farmacéuticas y afines. Como investigador que ha realizado estancias en distintos países, Reino Unido, Bélgica y EE.UU durante 22 años, he sido testigo que los investigadores españoles en el extranjero han sido siempre muy reconocidos por su capacidad creativa, innovadora y de dedicación al trabajo. Para mi es un honor como farmacéutico, al igual que estoy seguro para los miembros de esta Real Academia, pertenecer a esta familia de científicos españoles que trabajando en distintos frentes, antes y ahora, están contribuyendo al progreso de nuestro país. Como mencioné anteriormente en los fines de la RANF, es motivo de satisfacción contemplar el trabajo realizado por la Academia y como nuevo Presidente adquiero el compromiso de seguir adelante y cumplir con los mandatos de esta Corporación, a la que me toca representar en su más alto grado, lo que hago con gran orgullo.

En resumen, mi plan de acción es seguir avanzando con los compromisos académicos y científicos de la RANF tanto nacionales como internacionales. Debemos mantener la excelencia como sello de identidad y poner el conocimiento al servicio de la sociedad a través del importante capital humano con el que cuenta la Academia. Es esa diversidad de personas con una alta trayectoria académica y científica la que nos enriquece.

Termino, como decía el poema de mi paisano Jorge Guillen, al que visité cuando todavía vivía en EE.UU:

*Albor. El horizonte
entreabre sus pestañas,
y empieza a ver. ¿Qué? Nombres.
Están sobre la pátina
de las cosas. La rosa
se llama todavía
hoy rosa, y la memoria
de su tránsito, prisa.*

Muchas gracias a todos.

INFORMACIÓN ACADÉMICA



Bartolomé Ribas Ozonas

Académico de número de la Real Academia Nacional de Farmacia
e-mail: secretaria@ranf.com

Durante el primer trimestre del año 2013, tuvieron lugar un total de 10 sesiones científicas.

Las actividades se iniciaron después de las vacaciones de Navidad, con la celebración de la Solemne Sesión Inaugural del Curso Académico 2013, a las 19 horas, del día 17 de enero, donde tuvo lugar la Toma de Posesión del Excmo. Sr. Don. Mariano Esteban Rodríguez como nuevo Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia, sucediendo así en el cargo a la Excm. Sra. Doña María Teresa Miras Portugal.

Al Acto acudieron numerosas personalidades del mundo Académico, farmacéutico y de las instituciones del Estado. En la mesa presidencial acompañando al nuevo Presidente de la RANF, estuvieron: la Secretaria de Estado de Educación, Ilma. Sra. Dña. Montserrat Gomendio Kindelán y los presidentes de las RR. AA. de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Excmo. Sr. Don Alberto Galindo Tixaire y de Medicina, Excmo. Sr. Don Joaquín Poch Broto.

En esta Sesión Inaugural se dio lectura de la Memoria de Secretaria 2012, por el Excmo. Sr. Don Bartolomé Ribas Ozonas, Secretario General; y del Discurso reglamentario de apertura de curso Académico 2013, que por rotación correspondía a la Sección Cuarta: Farmacología y Farmacoterapia, corrió a cargo del Excmo. Sr. Don Ángel María Villar del Fresno. Finalizó la Sesión solemne con la entrega de Premios del Concurso Científico 2012.

El 24 de enero, tuvo lugar la presentación del libro: “Retrosceso en el tiempo: La Investigación Biomédica en España”. El acto contó con la presencia de la Secretaria de Estado de I+D+i, Dña. Carmen Vela.

La editora de la monografía, Excm. Sra. Dña. Ana María Pascual-Leone Pascual, presentó la obra, y a continuación intervinieron los ponentes: Excmo. Sr. D. Federico Mayor Zaragoza, Académico de Número de la RANF; y el Excmo. Sr. D. Emilio Muñoz Ruiz, Académico Correspondiente de la RANF, quienes disertaron sobre el contenido y comentaron diversas vivencias de cada uno de los autores.

El 31 de enero la RANF daba la bienvenida a un nuevo Académico Correspondiente extranjero, el Prof. Patrick Couvreur, figura emblemática en el campo de la nanotecnología médica. Fue presentado por la Académica de Número, Excm. Sra. Dña. María José Alonso Fernández. El conferenciante, Dr. Couvreur, disertó sobre "Nanomedicine and nanothernastic to overcome resistances to the treatment of severe diseases" abordando los múltiples aspectos del tema. El descubrimiento de nuevas moléculas para el tratamiento de enfermedades graves, el uso y la eficacia clínica de agentes quimioterápicos convencionales está directamente relacionada con los siguientes campos de estudio: resistencia a los medicamentos a nivel de los tejidos, debido a las barreras fisiológicas (no basados en mecanismos celulares), las drogas resistentes a nivel celular (mecanismos celulares), y la distribución no específica, la biotransformación y la eliminación rápida de los medicamentos en el organismo. Por tanto, es de sumo interés, el desarrollo de nanodispositivos capaces de superar la resistencia a fármacos en diversas patologías resistentes a la quimioterapia.

El 7 de febrero tuvo lugar la conferencia a cargo del Ilmo. Sr. D. José Manuel Giménez Amaya, Académico Correspondiente de la corporación y Profesor Ordinario de Ciencia Razón y Fe en la Universidad de Navarra, quién habló sobre "Ciencia y Religión en el Siglo XXI", y que fue presentado por el Excmo. Sr. Don César Nombela Cano, Académico de Número de la RANF.

El 14 de febrero, se celebró la conferencia, patrocinada en colaboración con la Fundación José Casares Gil, de Amigos de la RANF, sobre "Propiedad intelectual y patentes en la legislación española". Intervino el Excmo. Sr. Don José Soriano Guzmán, Magistrado del orden jurisdiccional civil y especialista en los asuntos propios de los órganos de lo mercantil, actualmente destinado en la Audiencia Provincial de Alicante. Miembro del Tribunal español de marca comunitaria, dibujos y modelos comunitarios, y fue presentado por nuestro Vicepresidente el Excmo. Sr. Don Antonio Ramón Martínez Fernández.

El 21 de febrero, tomó posesión como Académico Correspondiente el Dr. Manuel Esteller Bardosa, Director del programa de Epigenética y Biología del Cáncer del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge; Profesor de Investigación ICREA y Profesor de Genética de la Facultad de Medicina de Barcelona. Su conferencia versó sobre "Epigenética en la Salud y la Enfermedad", y fue presentado por el Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez, Presidente de nuestra Academia.

En su disertación señaló que la epigenética puede ser definida como el estudio de la función del genoma no asociada a la secuencia del ADN como tal, y que contribuye a establecer los patrones de expresión génica. Hasta hace pocos años, se pensaba que las alteraciones genéticas (mutaciones y otras alteraciones estructurales que llevan a la activación de oncogenes, y a la inactivación de genes supresores) eran las responsables del inicio y progresión del cáncer, sin embargo,

recientemente se ha demostrado que las alteraciones epigenéticas son muy importantes en la carcinogénesis. Los dos fenómenos epigenéticos más estudiados, pero no los únicos, son la metilación del ADN y el estado de acetilación de las histonas. A diferencia de las alteraciones genéticas, que son irreversibles, la naturaleza reversible de estos dos fenómenos epigenéticos y la disponibilidad de agentes inhibidores de la metilación y de deacetilasas de histonas, ha permitido que, la epigenética empiece a ser estudiada en su proyección a ensayos clínicos en base a la importante actividad antitumoral de la combinación de esos agentes en modelos preclínicos.

El 28 de febrero, se celebró la Mesa Redonda en colaboración con la Fundación José Casares Gil, de Amigos de la RANF, sobre: “Gluten y enfermedades relacionadas”. Coordinada por el Presidente de la RANF el Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez. En ella actuaron como ponentes los Doctores D. Eduardo Arranz del Instituto de Biología y Genética Molecular de la Universidad de Valladolid-CSIC, y Presidente de la Sociedad Española de la Enfermedad Celíaca (SEEC), que habló sobre “Inmunopatología, y formas de expresión de la enfermedad celíaca”. Sensibilidad al gluten no-celiaca: una nueva patología”; Dña. Carmen Ribes-Koninckx, Jefe de la Unidad de Gastroenterología Pediátrica, Hospital la Fe, Valencia y Miembro de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN), que disertó sobre “Epidemiología de la enfermedad celíaca. Nuevos criterios de diagnóstico. Prevención”; y por último, D. Juan Pablo Albar, del Centro Nacional de Biotecnología, CSIC y Coordinador General Instituto Nacional de Proteómica, ProteoRed-ISCIII, que expuso sobre las “Técnicas de análisis de gluten en alimentos”. Al Acto acudieron numerosos miembros de diversas asociaciones relacionadas con la Enfermedad Celíaca

El 7 de marzo, ingresó como Académico Correspondiente, el Ilmo. Sr. D. José Carlos Rodríguez Rey, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Cantabria, que fue presentado por el Excmo. Sr. Don José Miguel Ortiz Melón, Académico de Número de la RANF. Su discurso de ingreso versó sobre el “Papel de los lípidos en el desarrollo de la diabetes tipo 2: Una mirada desde la Genética Molecular”.

Manifestó que más de noventa años después del descubrimiento de la insulina por Banting, la prevalencia de la diabetes tipo 2 sigue en continuo aumento. Se estima que, de continuar la progresión actual, en el año 2030 el número de afectados a nivel mundial sobrepasará los 300 millones de personas. La diabetes tipo 2 es una enfermedad muy compleja, que afecta a numerosos aspectos del metabolismo. Entre los modelos de integración metabólica, propuestos para explicar la enfermedad, destaca el ciclo glucosa- ácidos grasos, propuesto por Randle. Basándose en él, McGarry propuso un modelo en el que una desregulación del metabolismo de los ácidos grasos, daría lugar a su vez a un aumento de la

resistencia a insulina que por su parte produciría un aumento de los niveles de la misma. De acuerdo con el modelo, la reiteración de este círculo vicioso daría como resultado la aparición de la enfermedad. Entre los diferentes niveles de regulación que podrían modificarse para romper este círculo, uno de los más prometedores, parece ser, es la modificación de la transcripción de los genes que codifican proteínas clave del metabolismo. Se han identificado una serie de receptores nucleares cuya activación podría servir para restaurar la regulación metabólica normal. La identificación de los ligandos de estos receptores, y la búsqueda de sustancias análogas con propiedades farmacológicas, ha incrementado ya, y sin duda lo hará aún más en el futuro, el arsenal terapéutico para luchar contra el importante problema que supone la diabetes tipo 2.

El 14 de marzo tuvo lugar la conferencia, en colaboración con la Fundación José Casares Gil, de Amigos de la RANF, del Profesor Doctor José M. Casanovas, del Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) de Madrid, titulada "Prevenir la entrada de virus en la célula, un eficiente proceso de neutralización viral por anticuerpos". Fue presentada por nuestro Presidente el Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez.

Durante su interesante y amena disertación explicó que, en la diseminación de una infección vírica, las partículas virales liberadas de células infectadas transmiten el genoma viral a nuevas células hospedadoras, donde iniciarán un nuevo ciclo replicativo y multiplicarán la infección. Para penetrar en la célula huésped, las partículas virales utilizan moléculas de la membrana plasmática celular, sus receptores, a los que se fijan para iniciar el proceso de penetración en el huésped. Los virus contienen proteínas especializadas en el reconocimiento de receptores celulares para su penetración en la célula. Estas proteínas son también diana de respuestas inmunes desencadenadas durante una infección. Una gran mayoría de los anticuerpos que el sistema inmune genera para combatir una infección vírica están dirigidos contra proteínas virales implicadas en la entrada en la célula. Algunos de estos anticuerpos, habitualmente con un alto poder de neutralización, inhiben la unión de los virus a receptores celulares, y otros procesos de penetración en el huésped. El conferenciante presentó diversas figuras y representaciones originales de sus propios estudios experimentales, que fueron la amenidad de los presentes, y finalmente fue muy felicitado.

El 21 de marzo, tomó posesión como Académica Correspondiente, la Prof. Dra. Dña. Elena de la Cuesta Elósegui, Vicedecana de Investigación, Profesorado y Relaciones Internacionales y Catedrática de Química Orgánica y Farmacéutica de la UCM. Fue presentada por la Académica de Número, Excm. Sra. Dña. Carmen Avendaño López. Su discurso de ingreso trató sobre "De la Naturaleza a la Síntesis: La Reactividad Química, un puente necesario".

Señaló que el conocimiento y control de la reactividad química es requisito imprescindible para lograr que cada paso de un proceso de síntesis dé lugar a un producto mayoritario, si no único; pues en la mayoría de los casos se forman diversos compuestos. Expresó que su trabajo se ha dirigido en gran medida a la síntesis de estructuras con posible interés biológico, y que han sido, en su mayor parte, análogos de otros numerosos productos naturales. En su disertación la conferenciante comentó algunos de los temas de investigación en los que trabajó, y otros en los que participó en colaboración con diversos laboratorios nacionales e internacionales. Todo ello, después de considerar un método científico, los objetivos diseñados y propuestos, una metodología personal planificada para conseguir los objetivos, y que la llevaron a buen fin. En su interesante exposición con la proyección de innumerables figuras y esquemas de fórmulas, estructuras moleculares, y cadenas de síntesis, nos explicó los numerosos logros científicos. Una vida de trabajo e intensa dedicación e ilusión, con la obtención de numerosas moléculas con actividad farmacológica y biológica, para los seres vivos.

Numerosos fueron los honores recibidos por nuestros Académicos, hay que destacar que nuestro Académico el Excmo. Sr. Don César Nombela Cano tomó posesión como Rector Magnífico de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo de Santander (Cantabria), el 9 de enero 2013.

En su toma de posesión, nuestro Académico de Número Dr. César Nombela Cano, centró sus palabras en la necesidad de lograr la excelencia por parte del mundo universitario. “Ser universitario es pertenecer a una institución dedicada al cultivo del estudio y la reflexión, sobre todos los temas con vocación de universalidad, con una permanente búsqueda de las fronteras del saber para lograr su expansión. La Universidad es un espacio en el que hay que desarrollar conocimiento y transmitirlo. Ese espacio del que tan necesitada está nuestra sociedad en estos momentos de la historia”.

En ese mismo contexto, el Excmo. Sr. Don César Nombela explicó que, “la sociedad del conocimiento” es decisiva ya que representa la posibilidad de “aportar soluciones y propuestas para seguir avanzando” y, en especial, en la situación actual que atraviesa “para salir de la crisis”, de la que dijo, “tanto se habla” y que “debemos superar con las capacidades que tenemos, especialmente en el mundo de la Educación, la Ciencia y la Investigación”.

El nuevo Rector añadió que “hay que racionalizar el gasto, emplear los recursos de la forma más eficaz, y plantearse los objetivos de manera acorde a la situación actual” pero, al mismo tiempo, “con la voluntad de superar las limitaciones”. “Sería absurdo ignorar que ese momento también afecta a la UIMP, pero a base de esfuerzo y talento tenemos que ser capaces de superarlo. Lo fundamental son las ideas, las capacidades de avanzar y progresar con los recursos que hay”, concluyó.

El 17 de enero, tuvo lugar en Madrid, en la sede de la Universidad Pontificia de Comillas, un acto de entrega de medallas honoríficas a un conjunto de personalidades, en agradecimiento a su labor y colaboración en la cátedra de Bioética. Entre esas personalidades se encontraba nuestro compañero Académico de Número, Excmo. Sr. Don Juan Ramón Lacadena Calero. El acto estuvo presidido por el Rector Magnífico de la Universidad de Comillas, Padre Julio Martínez, y por otras personalidades como la Ministra de Sanidad, Excma. Sra. Dña. Ana Mato; el Secretario Emérito del Pontificio Consejero para la Salud, Monseñor José Luis Redrado; y el Director de la Cátedra, Don Javier de la Torre.

Después de unas palabras de introducción e Historia de la Cátedra de Bioética por parte del Rector Magnífico, tuvo lugar la entrega de medallas. A continuación la Ministra agradeció la colaboración y el trabajo personalista que se está realizando desde la Universidad de Comillas y contribuir a considerar la “persona como centro”.

El 15 de marzo tuvo lugar el Acto de Solemne Investidura como Doctora “honoris causa” de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, de nuestra Académica de Número, Excma. Sra. Dña. María Vallet Regí, Catedrática de Química Inorgánica de la Facultad de Farmacia, de la Universidad Complutense de Madrid. El acto tuvo lugar en Bizkaia Aretoa, y fue presidido por el Rector Magnífico de la UPV/EHU, Iñaki Goirizelaia, con la presencia de la Ilma. Sra. Dña. Itziar Alkorta, Viceconsejera de Universidades e Investigación del Gobierno Vasco.

El nombramiento de nuestra Acad. Dra. María Vallet Regí, fue apadrinada por el Catedrático de Química Inorgánica, Don Teófilo Rojo, y promovido por el Departamento de Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias y Tecnología. Tras la firma del acta de nombramiento como Dra honoris causa por parte del mencionado Rector, la Excma. Sra. María Vallet Regí plantó el tradicional árbol en el Paseo de los Honoris Causa, en el Área de Leioa-Erandio del Campus de Bizkaia.

La Excma. Sra. María Vallet Regí es doctora en Ciencias Químicas por la Universidad Complutense de Madrid, y desde 1990 desempeña la Cátedra de Química Inorgánica en la Facultad de Farmacia en esa misma universidad. Pionera en la enseñanza e investigación de biomateriales en España. Ha realizado importantes contribuciones en el campo de los biomateriales cerámicos y otros biomateriales para su uso en traumatología, odontología e ingeniería tisular. Fue, de hecho, la primera investigadora mundial en el uso de materiales mesoporosos ordenados de sílice para inducir la regeneración ósea y en el diseño de estos materiales como sistemas de liberación controlada de fármacos. En 2008 fue galardonada con el Premio Nacional de Investigación, de España.

El 12 de febrero, en los locales de la Casa de Iberoamérica de Cádiz, se reunió el tribunal encargado de la concesión de la quinta edición del Premio Iberoamericano de Botánica José Celestino Mutis, Cortes de Cádiz. Presidido por nuestro Vicepresidente, el Excmo. Sr. Don Antonio Ramón Martínez Fernández, por

el Académico Secretario, Excmo. Sr. Bartolomé Ribas Ozonas y el Académico Correspondiente que lo promovió, el Excmo. Sr. Manuel González de Posada, Numerario de la de Medicina (RANM); así como otros tres miembros designados por la Academia Iberoamericana y el Excmo. Ayuntamiento de Cádiz. Después de la correspondiente deliberación se acordó por unanimidad conceder el Premio al trabajo titulado “Plantas exóticas invasoras en Canarias procedentes del Continente Americano”. Abierta la plica resultó ser su autor el científico, doctor en Farmacia y Doctor “honoris causa” en Ciencias Naturales por la Universidad Leibniz de Hannover (Alemania), Dr. Wolfredo Wildpret de la Torre (Santa Cruz de Tenerife, 1933), Profesor Emérito de Botánica de la Universidad de La Laguna, en Santa Cruz de Tenerife.

El 16 de marzo, se hizo entrega del mencionado premio, como es tradicional, en la ciudad de Cádiz, en la gala de entrega de premios por el Excmo. Ayuntamiento de Cádiz, en conmemoración del aniversario de la Constitución de 1812. Fue entregado, junto con el Diploma, por nuestro Vicepresidente el Excmo. Sr. Don Antonio Ramón Martínez Fernández.

Memoria Anual de Secretaría correspondiente al año 2012

Académico Secretario Excmo. Sr. Don Bartolomé Ribas Ozonas

PRÓLOGO

Las actividades correspondientes al Curso Académico 2012, de la Real Academia Nacional de Farmacia, se iniciaron oficialmente con la celebración de la Solemne Sesión Inaugural el día 12 de enero, bajo la presidencia de la Excm. Sra. Dña. María Teresa Miras Portugal. En la Sesión ocupó asiento en la mesa de presidencia, el Excmo. Sr. Don Manuel Díaz Rubio García, Presidente de la Real Academia Nacional de Medicina

Tras las palabras de salutación de la Presidente, el Académico Secretario Excmo. Sr. Don Antonio Luis Doadrio Villarejo, procedió a la lectura de la Memoria 2011 de Secretaria, y a continuación, mediante el acto protocolario de cesión del “Libro de Actas”, el Académico Secretario electo, Excmo. Sr. Don Bartolomé Ribas Ozonas, tomó posesión de su cargo.

Seguidamente se procedió a la lectura del discurso reglamentario de apertura de curso, titulado “**Estrategias para la seguridad del paciente**” que, en representación de la Sección Tercera, leyó el Excmo. Sr. Don Víctor Jiménez Torres.

A continuación, le fue entregada en esta Sesión Inaugural, al escritor farmacéutico y Académico correspondiente, Ilmo. Sr. Don Raúl Guerra Garrido, la Medalla Carracido en su categoría de Oro.

Además, fueron entregadas dos placas de la Academia, en reconocimiento a los servicios prestados como Académico Secretario, al Excmo. Sr. Don Antonio Luis Doadrio Villarejo, y como Presidente de la Sección 2ª al Excmo. Sr. Don Juan Ramón Lacadena Calero.

Finalmente, se procedió a la entrega de los Premios del Concurso Científico 2011.

DE LOS ACADÉMICOS

Recepción de nuevos Académicos

Académicos de Número

En el mes de diciembre 2012, se celebraron varias Juntas Generales Extraordinarias, en las que fueron elegidos mediante votación secreta, como Académicos de Número electos, los ya académicos correspondientes, y ambos Ilmos. Sres. Don Francisco José Sánchez Muñiz para ostentar la medalla 19; y Don Rafael Sentandreu Ramón para la medalla 18. Asimismo fue elegido Presidente de

esta Real Academia Nacional de Farmacia, el Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez; y reelegido en su cargo el Académico Bibliotecario, Excmo. Sr. Don Francisco Javier Puerto Sarmiento, a todos les deseamos una eficaz y armoniosa gestión.

De nuevo, en el curso académico 2012, ha tenido lugar la incorporación de catorce nuevos **Académicos Correspondientes**, diez de ellas de españoles, los Ilmos. Sres.: Sebastián Cerdán García-Esteller; José Antonio Rodríguez Montes; Luis Rivera de los Arcos; Jorge Camarasa García; Manuel Guzmán Pastor; Francisco Bolás Fernández; Eduardo Costas Costas; Cecilio Giménez Martín; Honorio Carlos Bando Casado y José López Guzmán. Y cuatro de extranjeros: los Dres: Alexei Verkhatsky y Ruth Duncan, de Inglaterra; y los Dres. Nicholas A. Peppas y Samuel I. Stupp, de EE.UU. Los tres últimos tomaron posesión durante del Simposio Internacional sobre “Fármacos, Nanomedicina y Biomateriales: un objetivo común”, organizado por la Excma. Sra. Dña. María Vallet Regí, que más adelante comentaremos.

Necrológicas

Hemos de hacer mención especial, a la pérdida sufrida este año por nuestra Corporación, debida al fallecimiento y dolor por su ausencia, del Académico de Número Excmo. Sr. Don Gaspar González González; del Académico Correspondiente Ilmo. Sr. Don Juan Manuel Montero Vázquez; y de los Ilmos. Sres. Académicos extranjeros Julio Brieva Alvarado, de Chile; y Juan Claudio Sanahuja Bacigaluppi, de Argentina. Vaya para todos ellos nuestro afectuoso recuerdo y gratitud por todo lo que han aportado a esta Corporación y el deseo de que se encuentren en la Paz del Señor.

ACTIVIDADES CIENTÍFICAS

Como es tradicional en nuestra Corporación, se han llevado a cabo las sesiones científicas en día de jueves. Aunque nos ha obligado a efectuar varias sesiones en una misma semana. Los frutos de la intensa actividad llevada a cabo han sido las treinta y cinco sesiones celebradas, distribuidas en: 11 Tomas de Posesión; 1 Simposio; 7 conferencias; 10 Mesas Redondas; 1 Tertulia Científica; 2 Necrológicas; 1 Presentación de Monografía; 1 Sesión Homenaje; y 1 Sesión conmemorativa.

Conferencias y mesas redondas por áreas temáticas

En el Área Bioquímica Molecular, Inmune e Inflamatoria: disertaron los siguientes académicos: el Académico correspondiente Ilmo. Sr. Lisardo Boscá Gomar sobre “Significado del macrófago en la regulación de la respuesta inflamatoria”; el Académico correspondiente Ilmo. Sr. Balbino Alarcón expuso el interesante tema sobre “Iniciación de la señalización por el receptor TCR:

modelo de discriminación inmune entre lo propio y lo extraño”; nuestro Presidente el Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez disertó sobre la “Vacuna frente al VIH/SIDA: Un largo recorrido”; el Excmo. Sr. Don José Antonio Cabezas Fernández del Campo expuso el estado actual sobre “Fármacos antigripales: actuales y otros (prometedores) en fase de investigación”; La Dra. Margarita del Val expuso también los recientes avances sobre el “Control de las infecciones virales por linfocitos T citolíticos”; y el Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez, Presidente de nuestra Academia disertó sobre: “Vacunas y Vacunaciones: ¿Hacia donde vamos?” en mesa redonda de la que fue su coordinador; La Excma. Sra. Doña Ana María Pascual-Leone Pascual expuso también con inusitada viveza y actualidad el tema con el título: “Fisiología y control cerebral del comportamiento”, en mesa redonda por Ana María Pascual-Leone Pascual y José María Medina Jiménez; y finalmente, la Sesión Conmemorativa de los Premios Nobel 2012, de Fisiología y Medicina, para la que disertaron por parte de nuestra Academia el Excmo. Sr. Don Juan Ramón Lacadena Calero, de cuya sesión fue coordinador y el Ilmo. Sr. Profesor Don Federico Mayor Menéndez, Catedrático de Bioquímica Biología Molecular, de la Universidad Autónoma de Madrid.

En el Área Botánica, se disertó sobre “La vida vegetal en hábitats extremos: estudios sobre vegetación y flora ultramáfica en la provincia biogeográfica Californiana” por el Ilmo. Sr. Don Daniel de la Cruz Sánchez Mata, académico correspondiente de la RANF. Y además a destacar como importante connotación la integración en nuestra Academia del Herbario de Luis Née, gracias a las gestiones de nuestro compañero Académico el Excmo. Sr. Don Francisco Javier Puerto Sarmiento.

En el Área Historia y Legislación, se disertó sobre el tema “En torno a la Constitución de 1812” por los Académicos de Número Excma. Sra. Doña María del Carmen Francés Causapé, el Excmo. Sr. Don Francisco Javier Puerto Sarmiento, la Excma. Sra. Doña Rosa Basante Pol y el Académico correspondiente Ilmo. Sr. Don Antonio González Bueno. También debemos añadir como constructiva aportación, el escaneo de numerosos libros antiguos y revistas.

En el Área de Farmacia Galénica, Hospitalaria, Patología, Medicamentos y Tratamientos, cabe destacar el **Simposio Internacional** sobre “Fármacos, Nanomedicina y Biomateriales: un objetivo común”, organizado por nuestra Academia Excma. Sra. Doña María Vallet Regí, y financiado por la “Fundación Ramón Areces”. Tuvo lugar en nuestra sede, y fue un verdadero éxito de asistencia procedente de toda España, y retransmitido en directo en nuestra web-Televisión. En él se impartieron conferencias de un gran nivel científico, y actuaron eminentes personalidades internacionales. Intervinieron los

Académicos de Número Excma. Sra. Doña Carmen Avendaño López y nuestro Presidente el Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez; y los profesores Håkan Engqvist; Wim Hennink; Luis Liz-Marzán; Clément Sánchez; Ramón Martínez Máñez; Enrique Gómez Barrena; Simó Schwartz, y José Plannell.

Y en diversas mesas redondas se disertó sobre “Farmacia Industrial y Galénica, especialidad prioritaria en el Sector Sanitario”; “Los retos de la investigación en el sector farmacéutico”, “Continuidad asistencial del paciente” también en colaboración con la Sociedad Española de Farmacéuticos de Hospitales, organizadas por el académico Excmo. Sr. Don Víctor Jiménez Torres. Y sobre “Medicina personalizada y desarrollo farmacéutico: una perspectiva bioética” que tuvo una segunda parte en una Tertulia Científica sobre “Las nuevas perspectivas del desarrollo clínico de medicamentos”, moderada por el Académico Excmo. Sr. Don Antonio Monge Vega.

En el Área de Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente: se disertó sobre “Fuentes energéticas para un desarrollo sostenible global” por nuestro Académico Excmo. Sr. Don Federico Mayor Zaragoza; Otras dos Mesas Redondas organizadas por la Comisión de Aguas Minerales y Mineromedicinales en las que se expusieron diversos trabajos realizados sobre el Balneario de “El Raposo”, en la provincia de Badajoz; en las que intervinieron los Académicos de número: Excma. Sra. Doña María del Carmen Francés Causapé; Excma. Sra. Doña Rosa Basante Pol; y los correspondientes: Ilmos. Sres. Miguel Ladero Álvarez; Antonio López Lafuente; Carmen de la Rosa Jorge; Josefina San Martín Bacaicoa, y Daniel Sánchez Mata.

Y finalmente otra mesa redonda con el título: “Ensayos de protección frente a helmintos”, presentada por nuestro Vicepresidente Excmo. Sr. Don Antonio Ramón Martínez Fernández.

Homenaje

Por último, comentar que la Academia rindió su homenaje, por el centenario del nacimiento, de nuestro antiguo Presidente y Presidente de Honor Excmo. Sr. Don Ángel Santos Ruiz, acompañándonos en la Presidencia, el Académico Vicepresidente de la Real Academia Nacional de Medicina, entrañable amigo de Don Ángel y también nuestro, el Excmo. Sr. Don Manuel Escudero Fernández. El acto se desarrolló en colaboración con la Fundación Ramón Areces, con la intervención de los siguientes Académicos de Número: Excmo. Sr. Federico Mayor Zaragoza; Excma. Sra. María Cascales Angosto; Excmo. Sr. José Antonio Cabezas Fernández del Campo; Excmo. Sr. Julio Rodríguez Villanueva; Excmo. Sr. Bartolomé Ribas Ozonas; Excma. Sra. M^a Teresa Miras Portugal; Excma. Sra. Ana M^a Pascual-Leone Pascual; Excmo. Sr. Manuel José López Pérez; y Excmo. Sr. José Miguel Ortiz Melón.

También tuvo lugar a principios de año, la presentación del libro “The evolution of drug discovery, from traditional medicines to modern drugs”, por el Académico correspondiente Ilmo. Sr. Don Enrique Raviña Rubira, Catedrático de Química Orgánica, de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela.

La Actividad Académica se complementa con las reuniones de las Secciones y Comisiones. Las Secciones se reunieron en 12 ocasiones y las Comisiones en 13. Además la Junta de Gobierno tuvo 12 sesiones, y la Junta General se reunió 3 veces de manera Ordinaria y 4 veces de forma Extraordinaria.

NOMBRAMIENTOS Y DISTINCIONES

Numerosos miembros de nuestra Corporación han sido galardonados con diversas “distinciones” o han sido designados para ocupar puestos de responsabilidad en algunos organismos, entre los que hemos recibido notificación mencionamos por su relieve que:

La Académica Excma. Sra. Doña María Teresa Miras Portugal tomó posesión de su plaza de Académica de Número en la Real Academia de Ciencias Veterinarias, y fue investida Académica Correspondiente de la Academia Nacional de Farmacia de Francia. Asimismo, recibió de la Presidente de la Comunidad de Madrid, Excma. Sra. Doña Esperanza Aguirre y Gil de Biedma, el Premio de Investigación Miguel Catalán 2011, en reconocimiento a su trayectoria profesional. Además, fue nombrada presidenta de la Comisión de Expertos, encargada de la reforma del sistema universitario español, aprobado en Consejo de Ministros; y le ha sido concedido el grado de Doctor “honoris causa” por la Universidad Rey Juan Carlos, cuyo Acto Solemne de Investidura tendrá lugar durante el mes de enero de 2013.

El Presidente Excmo. Sr. Don Mariano Esteban Rodríguez, recibió de la Asociación de Licenciados y Doctores Españoles en EE.UU. el medallón de dicha Sociedad.

El Excmo. Sr. Don Fidel Ortega Ortiz de Apodaca, Tesorero de esta Corporación, fue elegido Decano de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Alcalá de Henares.

El Excmo. Sr. Don Francisco Javier Puerto Sarmiento, Bibliotecario de esta Corporación, fue elegido y tomó posesión de su plaza número 14, como Académico de Número en la Real Academia de la Historia, en octubre 2012, por fallecimiento del Académico Jesús González González. El profesor Javier Puerto historiador de la Facultad de Farmacia y doctor por la Universidad Complutense de Madrid es el segundo farmacéutico que ingresa en toda la historia de aquella Academia, después

del también farmacéutico Casimiro Gómez Ortega, hace 242 años. Por ello, la profesión farmacéutica se encuentra sumamente honrada por este hecho histórico.

El Excmo. Sr. Don José Miguel Ortiz Melón, Vicesecretario, fue galardonado con la medalla de plata de la Universidad de Cantabria de Santander, en la que fue Rector Magnífico.

La Excma. Sra. Doña María Vallet Regí, fue investida Doctora “honoris causa” por unanimidad, por el Consejo de Gobierno de la Universidad del País Vasco. El acto tuvo lugar en Bizkaia Aretoa, y fue presidido por el Rector Magnífico de la UPV/EHU, Iñaki Goirizelaia, con la presencia de la Ilma. Sra. Dña. Itziar Alkorta, Viceconsejera de Universidades e Investigación del Gobierno Vasco.

El Excmo. Sr. Don Joan Guinovart Cirera fue nombrado Presidente de la “International Union of Biochemistry and Molecular Biology”. Solo otro español había sido nombrado con anterioridad, el Premio Nobel Severo Ochoa Albornoz.

El Excmo. Sr. Don Bartolomé Ribas Ozonas en el Congreso de la “International Academy of Sciences Ararat”, le fue entregada en Paris, la Medalla Ritterstern de la Europäische Akademie der Naturwissenschaften; y en el “14th International Conference on Sustainable Development and Eco Innovation”, le fue entregada por el Rectorado de la Universidad Politécnica de Cracovia, Polonia, la medalla de los 90 años de su fundación.

Al Excmo. Sr. Don Víctor Jiménez Torres y su equipo, en el “57 Congreso Nacional de Farmacia Hospitalaria”, fueron galardonados con el Premio 2012 a la “Innovación en Farmacia Hospitalaria”, asimismo, se le concedió el Premio Méritos 2012 de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria.

El Excmo. Sr. Don Guillermo Giménez Gallego, fue sido nombrado Rector de Profesores de la Universidad Pontificia de Comillas.

La Excma. Sra. Doña María del Carmen Francés Causapé tomó posesión como Académica de Número de la Academia de Farmacia del Reino de Aragón.

El Excmo. Sr. Don Eugenio Sellés Flores presidió en Roma, el XXX Congreso Internacional de la Sociedad Farmacéutica del Mediterráneo Latino.

El Excmo. Sr. Don Benito del Castillo García, fue sido distinguido como miembro relevante e invitado por la Real Academia de Medicina de Bélgica, y nos hace entrega de sus Boletines 2010 y 2011 a nuestra Biblioteca.

Y a finales de año 2012, al Excmo. Sr. Don César Nombela Cano, el Consejo de Ministros le otorgó la Gran Cruz de la Orden de Alfonso X El Sabio; y nombró Rector de la Universidad Internacional Menéndez y Pelayo, de Santander.

La Excma. Sra. Doña María José Alonso Fernández, fue sido nombrada miembro del Consejo Asesor del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e

Igualdad; y asimismo, se le otorgó la Medalla del Consejo General de Colegios Farmacéuticos de España, que le fue impuesta en el mes de diciembre 2012.

El Académico Correspondiente Ilmo. Sr. Don Jesús Pintor Just, fue sido nombrado miembro del “Editorial Board” de la revista científica “The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics”.

Y también el Académico correspondiente y de Número de la Real de Medicina Excmo. Sr. Don Pedro Guillén García, dirigió en la Clínica CEMTRO, de Madrid, el “duodécimo Curso Internacional Teórico-Práctico de Patología de la rodilla”; y fue protagonista este año 2012 del impacto creativo español en el mundo, del “artroscopio sin cables”, patentado en más de cien países, en beneficio de la Comunidad científica internacional y de la humanidad; tomó posesión de Académico correspondiente de la Academia Santa María de España; y es Académico electo de la de Ciencias Veterinarias de Murcia.

Y el también Académico correspondiente y Rector Magnífico de la Universidad de Zaragoza, Excmo. Sr. Don Manuel José López Pérez fue re-elegido, Rector Magnífico de la misma.

Vaya para todos ellos, conocidos científicos, nuestra más calurosa felicitación, por las distinciones recibidas en este Curso académico 2012, que por su eminente prestigio han elevado el de España.

DIFUSIÓN DEL CONOCIMIENTO Y FORMACIÓN

Respecto a la difusión del conocimiento, formación y educación científica y social, es de destacar, que en el Curso 2012 se ha procedido a la renovación de los portales web de la Academia, para búsquedas rápidas y eficaces gracias a la dedicación del Excmo. Sr. Don Antonio Luis Doadrio Villarejo. Disponemos del dominio ranf.com; y de 7 portales, específicos para noticias, publicaciones, sesiones en diferido, TV IP por internet, biblioteca virtual, campus virtual y el dedicado a las enfermedades olvidadas. En el portal publicaciones, se han editado “on line” los 4 números de Anales correspondientes del año 2012 y conseguido que esté referenciada en el JCR Science edition 2011. Además, se publicado “on line” 4 monografías (33 a 36): “Historia de la Real Academia Nacional de Farmacia”; “Química Bioortogonal”; “Biocatálisis aplicada a la obtención de fármacos y productos de alto valor añadido” y “Sistema mitocondrial: un reto en la medicina humana”. Y dos “Lecturas Singulares”: el libro resumen de las jornadas científicas sobre “Fármacos, nanomedicina y biomateriales: Un objetivo común” y el de “Seguridad del paciente oncológico: casos de éxito”. Esta última y la Historia de la RANF, editadas en colaboración con la Fundación José Casares Gil. Publicadas todas ellas también en un recién estrenado y lujoso formato de libro electrónico o e-book

en edición “on line” y digital DVD para PC Windows y Mac. Todo ello programado por el Excmo. Sr. Don Antonio Luis Doadrio Villarejo.

El portal publicaciones cuenta con una media de 40.000 visitas diarias, es decir de más de 14 millones en 2012. En nuestro portal multimedia, que es el más visitado, superando los 20 millones de visitas en 2012, hemos añadido durante el curso todas nuestras sesiones en video diferido, con fotos del acto, resumen del acto y biografías de los ponentes. Sumando las visitas obtenidas entre todos los portales en 2012, estas superan la impresionante cifra de 40 millones 906 mil consultas.

Y como todos los años, se ha publicado en papel, el Discurso de la Sesión Inaugural anteriormente mencionado; y el Anuario 2012 nº 64.

OBRAS DE RESTAURACIÓN

En cuanto al importante capítulo de obras de restauración se han corregido defectos fundamentales de infraestructura y saneamiento.

AGRADECIMIENTOS

La Fundación José Casares Gil ha contribuido a este desarrollo con su patronazgo en 8 importantes Sesiones Científicas.

La Fundación Ramón Areces que patrocinado 8 Mesas redondas, cuyas conferencias han sido mencionadas.

Al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, que gracias a las subvenciones recibidas de los presupuestos del Estado en el Curso 2012, hemos podido realizar las actividades previamente mencionadas. Aunque debido a la crisis económica no hemos recibido presupuesto para inversiones en el finalizado 2012 y en el iniciado 2013.

También a todos los patrocinadores del Concurso Científico puesto que con su contribución estimulan la labor científica de quienes participan en el mismo y a los Patronos y miembros de la Fundación “José Casares Gil” de Amigos de la Real Academia Nacional de Farmacia, que contribuyen a la actividad científica de nuestra Corporación.

Gracias a todos los Académicos de Número y Correspondientes, por la colaboración prestada, en particular al académico responsable de la Comisión de Informática Excmo. Sr. Don Antonio Luis Doadrio Villarejo, por su excelente trabajo de programación y gestión de nuestra página web, Anales “online” y portales; a aquellos que han participado con su asistencia a las actividades realizadas en nuestra sede; a los que han intervenido con interesantes conferencias y

proporcionado el alto prestigio que nuestra Academia tiene; y a todos los Académicos que por su generosidad, han permitido que sus compañeros pudieran intervenir en sesiones científicas. Pues todos los jueves del año nos quedan cortos para poder intervenir y exponer los resultados de los trabajos realizados. Asimismo incluyo a todo el personal administrativo, a los que nos han dejado por motivo de la crisis económica y a los que continúan con nosotros, que con su abnegado trabajo, dedicación y sacrificio, se merecen toda nuestra alabanza y agradecimiento.

EPILOGO

Como Real Academia Nacional de Farmacia, conscientes de su repercusión en los profesionales, investigadores farmacéuticos y de ciencias afines, y en su ámbito de consejo, formación científica, social y cultural, la Corporación se siente gustosa de reflejar los avances científicos, inquietudes y aspiraciones en su formación, incluyendo a la sociedad española.

Refleja y difunde, por tanto, la investigación de los farmacéuticos y científicos en general, de la Universidad, CSIC, industria farmacéutica y otros numerosos en centros de investigación y Clínicas y Hospitales españoles y extranjeros, especialmente de los que están alejados sobre todo en Alemania, Reino Unido, EE.UU. y Japón. Y está en contacto con las Sociedades científicas y profesionales, con los que se dedican a esta profesión sanitaria por excelencia en todas las instituciones mencionadas. Todos ellos, incluyendo el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, de quien depende institucionalmente, tienen en la Academia su consejo, foco de formación y difusión del conocimiento.



Iván Torres, Fidel Ortega y Benito del Castillo García *

**Editor para Iberoamérica*

benitodelcastillo@hotmail.com

Para este número, la sección de noticias de Iberoamérica que edito, ha contado con la colaboración de dos distinguidos colegas, el académico de número de esta Corporación, Dr. Fidel Ortega y del Dr. Iván Torres, decano de la Facultad de Ciencias de la Salud (UPAGU) en Cajamarca (Perú). Este último, es el que mas ha contribuido, proporcionado todo el material para elaborar estas noticias.

Con motivo de la XVI Reunión de la Comisión Permanente de COIFFA. así como de la XI Asamblea General a desarrollarse en la ciudad de Goiânia, Goiás – Brasil los días 03 y 04 de junio del 2013 a la par del V Congreso Iberoamericano de Ciencias Farmacéuticas y de la VIII Conferencia Nacional de Educación Farmacéutica de Brasil, bajo el lema “Ciencias Farmacéuticas: Formación, Innovación y Servicio”, que tendrán lugar del 05 al 07 de junio del 2013 en la ciudad de Brasilia (Brasil), y destacando el empuje y crecimiento que está experimentando esta organización (aproximadamente el 20% en el número de miembros sólo en el año 2013, según palabras de su presidente el profesor Dr. José Guimarães Morais) queremos dedicar, en esta ocasión, este espacio dedicado las noticias de Iberoamérica a COIFFA, con el fin de acercar al mundo académico esta institución que tan importante labor está realizando por la educación farmacéutica en los países que la integran.

Para ello reproducimos algunas de las intervenciones más relevantes recogidas en el boletín Noticoiffa que edita la propia organización.

¿QUÉ SIGNIFICA COIFFA?

Dr. Benito del Castillo

La COIFFA (Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia) fue refundada el año 2006 en Monterrey (México), a partir de la COHIFFA (Conferencia Hispanoamericana de Facultades de Farmacia), creada en Mérida (Venezuela) en 1992.

La incorporación de Brasil y Portugal, hace 5 años, supuso una aportación importante para aumentar los objetivos y responsabilidades que, en la década y

media anterior, ejercitaron los responsables farmacéuticos de Latinoamérica y España. Ahora, Portugal y España actúan como nexo con la Unión Europea, a través de la Asociación Europea de Facultad de Farmacia (EAFP).

Como dato anecdótico, debo resaltar que sólo Brasil aporta tantas Escuelas y Facultades de Farmacia, como el resto de países juntos. Por tanto, su presencia es fundamental para diseñar el futuro académico y farmacéutico de la región.

Como cofundador, miembro de la Comisión Permanente y en su momento Presidente de la COIFFA, he tenido el privilegio, en estos más de 20 años de andadura, de participar en todas las decisiones tomadas colegiadamente.

Desde 1992 hemos procurado aportar nuestra opinión independiente ante los problemas y situaciones que han afectado a la FARMACIA (con mayúsculas) de todos nuestros países.

También hemos tenido presencia institucional directa (pero salvando siempre nuestra independencia e idiosincrasia) en la Federación Internacional Farmacéutica (FIP), de cuya Sección Académica he sido el único presidente hispano; además, hemos asistido con voz autorizada a las reuniones de FEFAS, OFIL, AACP entre otras.

Uno de los objetivos nucleares de COIFFA consiste en tratar de lograr la Armonización Curricular de los estudios de Farmacia en nuestros países, para lograr, en un futuro próximo, la libre circulación de profesionales farmacéuticos en nuestros países.

¡Qué mayor bien y servicio que el de los colegas bien formados! (científicamente, deontológicamente y, por tanto, profesionalmente). Así los farmacéuticos podremos continuar siendo útiles a la Sociedad.

También los responsable de COIFFA, forman una crucial e importante Bolsa de Expertos, que pueden actuar (siempre se sean requeridos por distintas universidades) como experimentados jueces o pares académicos, para la visita, con fines de acreditación o certificación internacional de instituciones de docencia y/o investigación farmacéutica, de distintos países de nuestro entorno.

Igualmente, a través de COIFFA, se han establecido programas de colaboración conjunta para la impartición de programas docentes de postgrado, gracias al anhelado intercambio de profesores/as y estudiantes. En este ámbito están trabajando activamente colegas de Perú, México y España; están las puertas abiertas a nuevos colegas de otros países de nuestro ámbito.

Todas estas posibles actuaciones no pretenden inmiscuirse en las actividades propias de las instituciones o actividades propias de cada país. Sólo

intentan aportar su experiencia, personal o colectiva; pero, eso sí, siempre a requerimiento de parte y con independencia académica.

Otra faceta en la que COIFFA está empeñada es la armonización de la terminología académica, científica y farmacéutica, en nuestra área de acción, en los idiomas portugués y español; como siempre, recomendando, pero salvando en todos los casos las peculiaridades y características de la propia autonomía universitaria y la de cada Estado.

Para las enseñanzas de pregrado se ha recomendado ya, por parte de COIFFA, el mínimo común denominador, tanto en contenidos, como en su posible denominación.

Muchas universidades se sienten orgullosas de haber introducido el modelo COIFFA, en los nuevos planes de estudio de Farmacia, con la total aquiescencia de las autoridades correspondientes. Ahora se podrá pertenecer a COIFFA, individual o colectivamente y como institución universitaria independiente o como asociación nacional. Todos caben.

Así pues, os animo a incorporaros a este colectivo denominado COIFFA, donde todas las ideas y personas son bienvenidas, con el fin último de lograr una FARMACIA más fortalecida. Os aseguro además que el ambiente de amistad y colaboración mutua, es inigualable.

ROL DE COIFFA EN EL CONTEXTO EDUCATIVO INTERNACIONAL

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda

La Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia, cuyas siglas son COIFFA, tiene como misión *armonizar y perfeccionar la formación universitaria para el ejercicio profesional farmacéutico en Iberoamérica.*

Sus objetivos son:

1. Agrupar a todas las Facultades, Escuelas de Farmacia o similares pertenecientes a una Universidad de un País de América o de España y Portugal, que desarrollan Programas Académicos en Ciencias Farmacéuticas.
2. Realizar, de manera permanente y continua, análisis y reflexión crítica sobre los principios, métodos, programas y líneas de desarrollo de la Educación Farmacéutica en países de Iberoamérica, en los niveles de pregrado y posgrado y de formación continua.
3. Participar y discutir, tanto en la esfera nacional como internacional, en torno a criterios de organización, recursos formativos, admisión de estudiantes, elaboración de planes y programas de estudio, relaciones con el sistema sanitario,

programas de intercambio, investigación farmacéutica y, en general, en cuantas cuestiones se consideren relevantes para la formación de los farmacéuticos.

4. Formular propuestas y recomendaciones generales relativas a la formación y ejercicio de la profesión farmacéutica, ante los organismos competentes en distintos países.

5. Difundir conocimientos, ideas y puntos de vista relacionados con la función docente e investigadora de las Facultades de Farmacia o similares, entre profesores y profesionales de la salud, asociaciones, dependencias de gobierno estudiantes y público en general.

Uno de los principales logros de la COIFFA fue establecer y publicar en 1998, los Mínimos Curriculares para la Formación Farmacéutica, que han sido referente en la reestructuración de planes y programas de estudio, así como en los procesos de acreditación, ya que fue la primera propuesta a nivel internacional con tal precisión.

Estas recomendaciones para la formación farmacéutica expuestas por la COIFFA, constituyen hasta la fecha, elementos fundamentales para alcanzar las cualidades del Farmacéutico como profesional científico y sanitario, y han sido difundidas por otros organismos como parte de las Buenas Prácticas de Educación Farmacéutica. De esta forma, los Mínimos Curriculares de COIFFA coinciden con la propuesta del profesional farmacéutico de siete estrellas de la Federation Internationale Pharmaceutique (FIP), a su vez adoptadas por la OPS y ampliadas a dos más por la EAFP y FIP.

Las cualidades del profesional farmacéutico a las que se hace referencia son: Prestador de servicios farmacéuticos, responsable de la toma de decisiones, comunicador, líder, gerente, estudiante permanente, docente.

Además de lo anterior, la COIFFA visualizó la importancia de añadir al perfil del farmacéutico la de ser investigador, cualidad que también ha hecho suya la OMS y la FIP. De manera adicional, en las últimas reuniones de la COIFFA donde se ha reflexionado en torno a las necesidades de la formación farmacéutica, se han elevado voces de miembros de este organismo iberoamericano, planteando como otras cualidades que se deben fortalecer en el perfil de este profesional, en apego a la ética y la deontología, la de ser gestor de las relaciones públicas y protector de la sustentabilidad.

Otro aspecto a destacar sobre el desarrollo de las actividades de COIFFA, es la de homologación de términos, que ha sido uno de los proyectos constantes y que poco a poco ha ido dando frutos; de modo que es ya un proyecto importante la armonización de la terminología académica, científica, y farmacéutica, en dos idiomas: español y portugués.

Finalmente, es importante señalar que la COIFFA, en respeto a la autonomía de cada país y de cada universidad, así como al empleo del idioma español o portugués que caracteriza cada país o región, acepta el uso de una denominación distinta sobre las agrupaciones de las ciencias.

En el campo educativo, los programas de colaboración han permitido instrumentar programas docentes de posgrado, de educación continua, así como estancias de investigación gracias al intercambio de profesores y estudiantes. En este ámbito se han dado colaboraciones entre pares de Perú, Bolivia, México y España; así mismo, las puertas están abiertas a nuevos compañeros de otros países de nuestro ámbito.

En el campo de la investigación, la COIFFA ha sido un punto de partida para la realización de tesis de posgrado y pregrado, de tal forma que, se han realizado estudios comparados de planes y programas de estudios de diversas universidades, al considerar variables que permiten valorar el grado de armonización, semejanza o divergencia entre ellos, resultados muy valiosos para la modificación de los mismos.

De esta forma, la conferencia ha trabajado de acuerdo con su misión, siempre con el propósito loable de perfeccionar la educación farmacéutica, considerando los avances científicos, tecnológicos y farmacéuticos que enriquecerán a las universidades de experiencia y buenas prácticas en la Educación Farmacéutica en Iberoamérica.

ELEMENTOS RELEVANTES SOBRE LA ACTUALIZACIÓN Y REGISTRO DE LOS ESTATUTOS DE COIFFA

Dra. Patricia Parra Cervantes

La Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia (COIFFA) tiene como antecedente histórico, su creación en el año 1992 en la Universidad de los Andes (ULA), en Mérida, Venezuela, como un organismo integrado exclusivamente por Decanos, por directivos equivalentes o sus representantes.

En un inicio fue denominada Conferencia Hispanoamericana de Facultades de Farmacia (COHIFFA); habiendo sido sus promotores los doctores Benito del Castillo García y Alfredo Carabot Cuervo, Decanos de las Facultades de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) y de la ULA, respectivamente.

En 1996, al cabo de una de las reuniones de mayor participación de Decanos y profesionales de Farmacia provenientes de Universidades de España y de distintos países de habla hispana de América Latina, convocada por el Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco

(UAM-X), en México, Distrito Federal; la Asamblea decide constituirse como asociación civil y es en 1997, que los Estatutos de la COHIFFA quedan formalmente registrados en México ante Notario Público, teniendo como domicilio legal y fiscal la UAM-X.

Con la experiencia acumulada de cerca de una década de reuniones y de importantes documentos generados por la COHIFFA, que no habrían salido a la luz si no hubiera habido además de los decanos, una amplia participación de profesores y profesionales de la Farmacia; la Asamblea realizada en 2001 en Campeche, México, con el auspicio de la Universidad Autónoma de Campeche, decidió modificar sus estatutos para ampliar formalmente la base de sus miembros, con la incorporación de nuevas figuras de asociados, como las destinadas a admitir a profesores, profesionistas y asociaciones u otros organismos públicos y privados comprometidos con los objetivos de la COHIFFA; así como identificar y generar como parte de los estatutos una estructura organizacional que si bien no tiene fines de lucro, permita una mejor definición de responsabilidades de su directiva (la Comisión Permanente) y de manera particular, estipular la posibilidad de recibir donaciones, así como el personal responsable de la interlocución formal con la autoridad fiscal mexicana, dado que la asociación fue registrada en este país y por ello se requiere cumplir con la legislación correspondiente.

Por otra parte, motivados por la misión y objetivos de COHIFFA, en aras de consolidar la armonización de planes y programas de estudios, considerando una visión integral y universal del ejercicio profesional farmacéutico, e impulsados por la creciente presencia internacional de nuestra asociación; se invitó a adherirse a Facultades y organizaciones de profesionales de Portugal y Brasil; lo cual se inició en 2006 en la ciudad de Monterrey, México, en la Asamblea auspiciada por la Universidad Autónoma de Nuevo León. Este hecho constituyó el parte-aguas que dio vida a la actualmente denominada Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia (COIFFA), lo cual ha implicado considerar esta situación en nuevos estatutos.

La formalización de los cambios a los Estatutos de COHIFFA a COIFFA no ha sido tarea fácil, ya que ello ha implicado no sólo un cambio de denominación y de siglas, sino una ardua tarea de consulta con distintos abogados para conseguir una forma estatutaria que si bien pretende ser menos compleja en su redacción que los artículos registrados originalmente, debe cumplir con los requisitos que exige la legislación de México a una asociación constituida en el país con participación de miembros de distinta nacionalidad.

Los nuevos estatutos han quedado finalmente elaborados gracias a la labor altruista y experta de la distinguida abogada mexicana, Maestra Yolanda Legorreta

Carranza, quien ha captado las necesidades de un organismo como lo es COIFFA y ha hecho posible plasmar los cambios requeridos, entre los que se pueden mencionar:

1. La adecuación y homologación de todas las redacciones y la numeración de los capítulos, así como de los artículos donde fue necesario.
2. La precisión y definición de:
 - a) Cada uno de los órganos de la Conferencia; sus atribuciones y facultades; las disposiciones indispensables para las sesiones, tipos de sesiones de la Asamblea General, votaciones y otras para asegurar su funcionamiento, dejando que las demás atribuciones de la Comisión Permanente, de la Asamblea y de la participación de todos los miembros, se ubiquen en unas reglas de funcionamiento que, en sentido estricto, no deben incluirse en los Estatutos, al ser éstos el marco general de la organización de la asociación.
 - b) Los órganos de administración (el Consejo de Administración, formado por el Presidente, el Secretario Administrativo y el Tesorero), así como el que tiene la representación legal, particularmente para los fines fiscales, que en este caso, ha quedado en la figura del Secretario Administrativo.
 - c) Los tipos de asociados, sus derechos y obligaciones, la forma de ingreso; las disposiciones relativas a la pérdida de la calidad de asociado.
 - d) Todas aquellas disposiciones que faltaban para una asociación sin fines lucrativos, pero que a la vez puede ser donataria, y que en el Sistema de Administración Tributaria (SAT) de la Secretaría de Hacienda y Crédito Público de México, se exige aparezcan textuales en los Estatutos y con el carácter de irrevocables.

CENTENARIO DE LA ESCUELA DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

Dra. Wanda T. Maldonado

La Escuela de Farmacia de la Universidad de Puerto Rico está próxima a celebrar su centenario. El entonces Departamento de Farmacia fue originalmente fundado en el Recinto de Río Piedras de la Universidad de Puerto Rico el 22 de septiembre de 1913, apenas 10 años después de la fundación de la Universidad de Puerto Rico en 1903.

Fue la primera institución de enseñanza superior en desarrollar un programa académico de una profesión de la salud en Puerto Rico, bajo el liderazgo de su primer director, el Dr. Luis Salivia, graduó en 1915 su primera promoción

compuesta por 12 Químicos Farmacéuticos. En 1916 el currículo cambia a uno de tres años. En 1925 se convierte en Colegio de Farmacia y es nombrado como su primer Decano el Doctor Lucas Luis Vélez. En 1926, el Colegio de Farmacia es aceptado como miembro de la Asociación Americana de Escuelas de Farmacia (AACP por sus siglas en inglés), organización en la continúa como miembro activo. En 1928 su programa se amplía a uno de cuatro años, y se ofrece entonces el grado de Bachillerato en Ciencias Farmacéuticas. En 1932, dicho programa académico es acreditado por el Consejo Americano de Educación Farmacéutica (hoy Accreditation Council for Pharmacy Education, ACPE por sus siglas en inglés), y es el primer programa profesional acreditado en la Universidad de Puerto Rico, acreditación que continúa en el presente. Ese mismo año se inaugura su nueva sede, el Edificio Agustín Stahl, en el Recinto de Río Piedras. En 1949, acorde con el desarrollo de nuevos avances en las ciencias, el programa de bachillerato en ciencias farmacéuticas evoluciona a un currículo de cinco años.

En 1936 se establece el Jardín Experimental de Plantas Medicinales, con el fin de realizar investigaciones sobre el contenido químico y efectos farmacológicos de plantas de uso común en la sociedad puertorriqueña. En 1954 se establece el Museo de Farmacia, una iniciativa del entonces Decano, Dr. Luis Torres Díaz. La estructura de este museo es una réplica de una farmacia puertorriqueña del siglo XIX. En 1973 se establece el Centro de Información de Medicamentos, servicio entonces único en la Isla dirigido brindar servicios a los profesionales de la salud.

En 1976, con el mayor énfasis en las ciencias clínicas en farmacia y la interdisciplinaria, el Colegio de Farmacia se traslada al Recinto de Ciencias Médicas, donde actualmente reside. En 1988 se desarrolla el programa de Maestría en Ciencias en Farmacia con especializaciones en farmacia industrial y química medicinal, y en 1989 se convierte en Escuela de Farmacia.

Los programas académicos de la Escuela continúan evolucionado con el transcurrir de los años, y en 2001 comienza el ofrecimiento del Doctorado en Farmacia (doctorado profesional, Pharm.D.). El programa es uno a base de competencias y centrado en el cuidado farmacéutico que enfatiza el desarrollo de las competencias de; cuidado farmacéutico, pensamiento crítico, solución de problemas y toma de decisiones, autoaprendizaje y desarrollo profesional, ética, administración, comunicación, conciencia y responsabilidad social, interacción y relación social e intervención en política pública. Se integran además experiencias prácticas (formación asistencial) desde el primer año de estudios hasta el cuarto año profesional, además se promueve el aprendizaje activo mediante variadas experiencias académicas.

La Escuela de Farmacia ofrece también 2 programas post-grado de residencias en Farmacia; una en farmacia institucional y otra en farmacia de comunidad.

La Escuela de Farmacia de la Universidad de Puerto Rico se siente muy complacida de compartir sus logros con los miembros de la Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia (COIFFA). Esperamos continuar colaborando con COIFFA y estamos a su disposición para compartir nuestras experiencias en torno al desarrollo de nuestros programas, los cuales están a la vanguardia de la educación farmacéutica contemporánea. Para la Escuela de Farmacia de la Universidad de Puerto Rico, es un honor ser parte de un grupo tan extenso y diverso de educadores farmacéuticos que brindan su experiencia y una perspectiva tan amplia a nuestra profesión.



José M. Ortiz Melón

Editor científico
e-mail: edicion@ranf.com

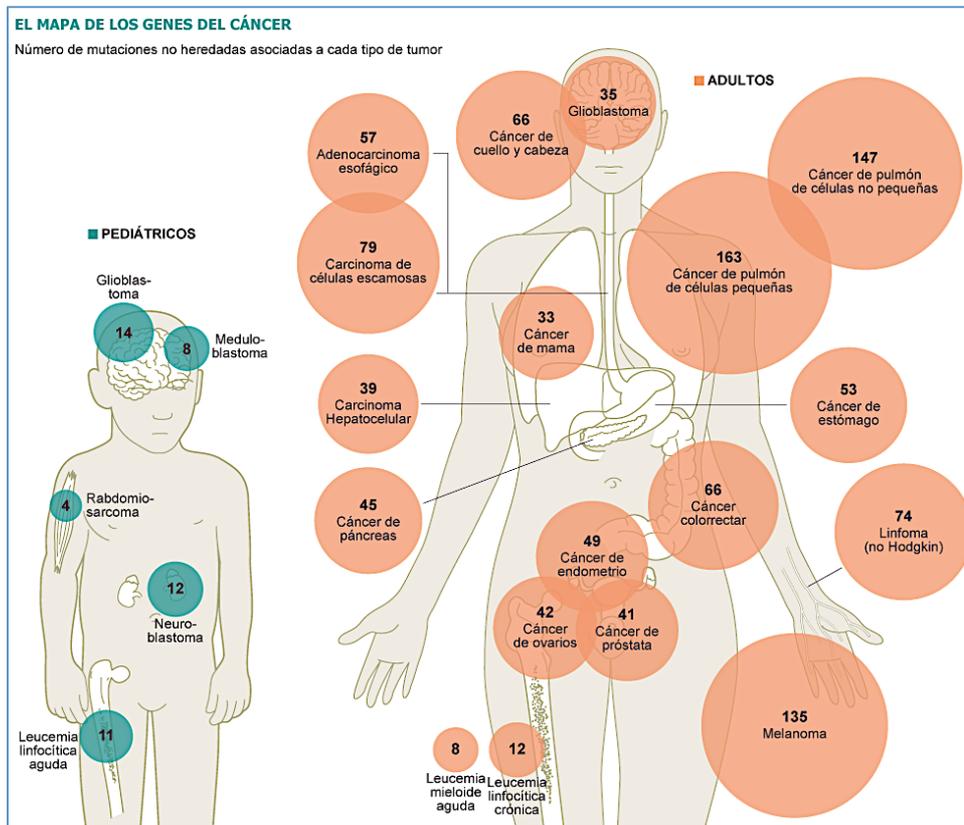
Lecciones de Genómica del Cáncer

En la última década los esfuerzos realizados en la secuenciación de muchos tipos de cáncer han permitido conocer las mutaciones presentes en los cánceres humanos más comunes. Esto ha sido posible por el espectacular descenso en el coste de la secuenciación de ADN, que se ha reducido cerca de 100 veces, y por los avances en esta tecnología. En la actualidad se dispone de datos suficientes como para poder tener una idea bastante aproximada de los genes del cáncer, y en consecuencia, de la biología del cáncer y de las estrategias para un mejor tratamiento. La Revista Science ha publicado con este motivo un número monográfico dedicado a revisar los avances en la genómica del cáncer. Consideramos de gran interés las ideas principales que se exponen en uno de ellos, el artículo titulado “Cancer Genome Landscapes” cuyo autor principal es el Dr. Bert Vogelstein.

¿ Cuantos genes mutados hay en un cáncer?

Una cuestión pendiente desde que comenzaron los estudios de identificación de los genes mutados en cáncer, era conocer cuantos genes mutados eran necesarios para iniciar un cáncer. En la actualidad estos estudios han revelado que hay aproximadamente 140 genes que cuando se encuentran alterados por mutaciones intragénicas, pueden promover o “dirigir” el proceso de la tumorigénesis. Un tumor típico, contiene de 2 a 8 de estas mutaciones “driver” y las restantes se consideran mutaciones secundarias o “passenger” ya que no confieren ventaja selectiva para el crecimiento. Por lo general, los tumores sólidos como los de colon, mama, cerebro o páncreas presentan un promedio de 33 a 66 genes mutados de los que el 95% son sustituciones de una sola base. Otros tipos de tumor contienen más o menos mutaciones que el promedio. Entre los que presentan más, se encuentran los melanomas y los tumores de pulmón, que contienen hasta 200 mutaciones diferentes por tumor. Este mayor número de mutaciones refleja la implicación de potentes mutágenos como la luz UV y el consumo de cigarrillos en la patogénesis de estos tumores. Así, los tumores de pulmón en fumadores presentan 10 veces más mutaciones somáticas que el mismo tipo de tumor en no fumadores. En el otro lado del espectro, los tumores

pediátricos y las leucemias, presentan muchas menos mutaciones que el promedio. Aproximadamente 9,6 mutaciones por tumor.



El curso temporal de las mutaciones

Otra pregunta que los investigadores han estado muy interesados en resolver se refiere a cuándo en el tiempo, se producen dichas mutaciones.

Los tumores evolucionan de benignos a malignos por adquisición de una serie de mutaciones a lo largo del tiempo. La “primera” mutación proporciona una ventaja selectiva en el crecimiento de una célula epitelial normal permitiendo que sobreviva sobre las células vecinas pasando a constituir un clon microscópico. Este proceso de mutación, va seguido de la llamada expansión clonal. Así, en el caso del cáncer de colon la “primera” mutación tiene lugar generalmente en el gen *APC*. El pequeño adenoma que resulta de esta mutación crece lentamente, pero una segunda mutación, generalmente en el gen *KRAS*, desata una segunda ola de expansión clonal que permite una expansión en el número de células. Las células que llevan la mutación en *APC* permanecen, pero en un número mucho menor que las que llevan ambas mutaciones. Este proceso de mutación seguido de expansión clonal, continúa, con mutaciones en genes como *PIK3CA*, *SMAD4*, y *TP53* generando finalmente un tumor maligno, que puede invadir la membrana basal subyacente y metastatizar en nódulos linfáticos y órganos distantes como el hígado. Las mutaciones que confieren una ventaja selectiva para el crecimiento al tumor se

denominan mutaciones “driver”. Cada mutación driver proporciona solo una pequeña ventaja selectiva para el crecimiento, pero al cabo de los años, este ligero aumento (una o dos veces por semana) resulta en una gran masa de miles de millones de células al cabo de varios años.

El número de mutaciones en ciertos tumores de tejidos que se renuevan, está directamente relacionada con la edad. Esta correlación, implica que más de la mitad de las mutaciones somáticas identificadas en estos tumores, tienen lugar durante la fase pre-neoplásica, es decir, durante el crecimiento de células normales que continuamente renuevan el epitelio gastrointestinal o el génito-urinario y otros tejidos. Todas estas mutaciones pre-neoplásicas son mutaciones secundarias o “passenger” que no tienen efecto en el proceso neoplásico. Este resultado explica por qué un tumor coleo-rectal en una persona de 90 años, tiene casi el doble de mutaciones que en una de 45 años. Este hallazgo también explica, al menos parcialmente, por qué tumores cerebrales avanzados (glioblastomas) y cánceres pancreáticos presentan muchas menos mutaciones que los cánceres coleo-rectales. A diferencia de las células epiteliales que tapizan las criptas del colon, que se dividen activamente, las células de la glía del cerebro y las de los ductos del páncreas no se dividen, y por tanto, tienen menos mutaciones. La mutación que “abre la puerta” (gatekeeping) en un cáncer pancreático o de cerebro, tiene lugar en una célula precursora que contiene pocas mutaciones, a diferencia de la célula precursora en el cáncer coleo-rectal que contiene muchas más mutaciones. Esta línea de razonamiento permite también explicar, por qué los cánceres pediátricos contienen muchas menos mutaciones que los tumores en adultos. Los cánceres pediátricos, tienen lugar con frecuencia en tejidos que no se renuevan, y aquellos que aparecen en tejidos que sí se renuevan como las leucemias, se originan en células precursoras que no se han renovado (dividido) tanto como en adultos. Estudios de secuenciación en pacientes leucémicos, apoyan la idea de que las mutaciones tienen lugar como sucesos al azar en células precursoras normales, antes de que dichas células adquieran la mutación iniciadora.

Ahora bien, ¿cuando tienen lugar el resto de las mutaciones durante la tumorigénesis? Debido a que las mutaciones en tumores se producen a una velocidad predecible y calculable, el número de mutaciones somáticas proporciona un “reloj” del tipo del que se emplea en biología evolutiva para determinar el tiempo de divergencia entre especies. Así, el número de mutaciones en las etapas de progresión del cáncer, se ha podido medir en el caso de cánceres coleo-rectales y pancreáticos. Aplicando el modelo evolutivo del reloj citado a estos datos, se extraen dos conclusiones contundentes: la primera es que se tardan décadas hasta desarrollar un cáncer metastático completo y segunda, que las mutaciones presentes en las lesiones metastáticas estaban presentes ya, en una gran número de células en los tumores primarios.

El tiempo de adquisición de las mutaciones, es importante para entender el proceso de la metástasis, que es responsable de la muerte de la mayor parte de los pacientes con cáncer. El tumor primario por lo general, puede ser extirpado por cirugía, pero lesiones metastásicas residuales, muchas veces indetectables y diseminadas, finalmente crecen, perjudicando la función de los pulmones, hígado y otros órganos. Desde una perspectiva genética, parecería que debiera existir mutaciones que convirtieran un cáncer primario en metastático, del mismo modo, que hay mutaciones que convierten una célula normal o un tumor benigno en un tumor maligno, pero a pesar de intensos esfuerzos, no se han podido encontrar alteraciones genéticas que distingan cánceres que metastatizan de aquellos que no metastatizan.

Una explicación posible, es que se trate de mutaciones o cambios epigenéticos que sean difíciles de identificar con las tecnologías actuales. Otra explicación, es que las lesiones metastásicas, no hayan sido estudiadas en suficiente detalle para poder identificar alteraciones genéticas dada su naturaleza heterogénea. Pero otra posible explicación, es que simplemente no existan genes de la metástasis. Un tumor maligno primario puede tardar muchos años en metastatizar, pero este proceso es explicable en principio por un proceso aleatorio. Así, los tumores avanzados liberan millones de células cada día a la circulación. Estas células tienen una vida media corta, y una fracción minúscula de ellas, es capaz de establecer una lesión metastásica. Se puede pensar, que las células circulantes de manera infrecuente y al azar, se alojen, en un lecho capilar o en un órgano que proporcione un microambiente favorable para el crecimiento. Cuanto mayor es la masa tumoral, mas probable será que este proceso tenga lugar. En este escenario, la evolución continua del tumor primario reflejaría ventajas selectivas de carácter local mas que ventajas selectivas futuras. La idea de que el crecimiento en sitios de metástasis no depende de alteraciones genéticas adicionales, está apoyada por resultados que muestran, que incluso células normales, cuando son colocadas en ambientes propicios, como un nódulo linfático, pueden crecer, formando organoides con una vasculatura funcional.

Alteraciones cromosómicas en tumores

Aunque la velocidad de mutaciones puntuales en células tumorales es similar a la de las células normales, la velocidad de cambios cromosómicos es mucho mas elevada. Debido a ello, la mayoría de los tumores sólidos presentan una amplia variedad de cambios en el número de cromosomas (aneuploidia) así como deleciones, inversiones, traslocaciones y otras anormalidades cromosómicas. Cuando una porción de un cromosoma se duplica o se suprime (deleciona), resulta difícil identificar los genes cuya ganancia o pérdida confieren una ventaja en el crecimiento de la célula tumoral. Estos genes diana se identifican mejor en el caso de traslocaciones cromosómicas, deleciones homocigóticas y amplificaciones

genéticas. Las traslocaciones por lo general producen la fusión de dos genes para crear un oncogen (como en el caso de *BCR-ABL* en la leucemia mieloide crónica) pero en un pequeño número de casos, pueden también inactivar un gen supresor de tumor al producir una truncación del mismo, o al separarle de su promotor. Las deleciones homocigóticas implican a uno o a unos pocos genes y la diana es siempre un gen supresor de tumor. Las amplificaciones contienen un oncogen cuyo producto proteico esta anormalmente activo, simplemente porque el tumor contiene de 10 a 100 copias del gen por célula comparado con las dos copias presentes en las células normales.

La mayoría de tumores solidos contienen docenas de traslocaciones. Pero como sucede con los genes *passenger* estas no dan lugar, por lo general, a una ventaja selectiva en el crecimiento celular. Los puntos de rotura de las traslocaciones no suelen contener genes y muchas de las traslocaciones y deleciones homocigóticas se encuentran adyacentes a los sitios por donde se producen las roturas de los cromosomas (sitios frágiles). Las células del cáncer parecen poder sobrevivir a estas roturas cromosómicas mas fácilmente que las células normales, debido a que contienen mutaciones en genes como *TP53*, que normalmente responderían a lesiones en el DNA activando la muerte celular. Los estudios realizados, revelan que hay 10 veces menos genes afectados por cambios cromosómicos que por mutaciones puntuales. Así pues, aunque las alteraciones cromosómicas son mas frecuentes en las células cancerosas estas no parecen en su mayoría tener mucho efecto en el proceso de la tumorigénesis.

Impacto de la Genómica del cáncer en su tratamiento

El reconocimiento de que ciertos tumores contienen mutaciones activadoras en genes *driver* que codifican para proteína quinasas ha permitido el desarrollo de una serie de nuevos fármacos inhibidores de proteína quinasas que tienen a estas como dianas terapéuticas. Ejemplos de esto son los inhibidores de quinasas EGFR, los inhibidores de ALK y los inhibidores específicos de BRAF. Antes de instituir un tratamiento con estos agentes es necesario determinar si el cáncer del paciente en cuestión contiene las mutaciones sensibles a estos fármacos. Así por ejemplo, una fracción de pacientes con cáncer de pulmón presentan mutaciones de EGFR o traslocaciones de ALK, y sólo estos pacientes podrán, al menos en principio, responder a ellos. Por el contrario, el tratamiento de pacientes de cáncer de pulmón que no presentan esas alteraciones genéticas con dichos productos no sería eficaz, sino que se podrían presentar efectos secundarios de tipo tóxico, mientras que sus tumores continúan progresando.

Una segunda consideración se refiere a los efectos secundarios y metabolismo de los agentes terapéuticos. En la actualidad la dosis de los fármacos empleados en el tratamiento del cáncer, esta basada en el tamaño del paciente (peso o área corporal). Pero el cociente terapéutico de los fármacos anticancerosos

(el cociente entre la concentración que produce efectos secundarios y la concentración necesaria para matar las células tumorales) es baja, sobre todo en el caso de los tratamientos convencionales no dirigidos. Pequeños cambios en las concentraciones circulantes de estos fármacos pueden tener gran importancia entre la reducción sustancial del tumor y efectos colaterales intolerables. El conocimiento del estado de los genes que codifican los enzimas que metabolizan dichos fármacos podría mejorar sustancialmente los resultados del tratamiento, al informar sobre la dosificación mas adecuada. Idealmente este conocimientos de los genes debe ir acompañado de medidas farmacocinéticas de las concentraciones de fármacos en cada paciente.

Genómica del cáncer y otros modos de reducir la mortalidad

Cuando pensamos en la erradicación del cáncer pensamos, por lo general, en la curación de los casos avanzados, es decir, de aquellos que no pueden ser curados por cirugía porque han metastatizado. Sin embargo, esta es una curiosa manera de pensar acerca de una enfermedad que difiere de otras. Así, cuando pensamos en enfermedades cardiovasculares o infecciosas, consideramos maneras de prevenir la enfermedad en lugar de pensar sólo en curar con fármacos, las situaciones mas avanzadas. En la actualidad, no hay medios mejores para curar la polio o el infarto masivo de miocardio que había hace mil años. Sin embargo, podemos prevenir estas enfermedades con eficacia (vacunas) o reducir su incidencia (cambios en la dieta , estatinas) o mitigar su severidad (stents, agentes trombolíticos) y por tanto, conseguir un impacto importante en su morbilidad y mortalidad.

Esta aproximación de tratar sólo de la curación del cáncer avanzado podría haber sido lógica hace 50 años, cuando la patogénesis molecular del cáncer era misteriosa. Pero esta idea no es aceptable en la actualidad. Conocemos con precisión las causas del cáncer: una serie secuencial de alteraciones en genes bien definidos que alteran la función de un número pequeño de rutas de señalización celular. Mas aún, sabemos que este proceso tarda décadas en desarrollarse y que el estado incurable, metástasis, tiene lugar unos pocos años antes que la muerte. En otras palabras, del millón de personas que muere de cáncer cada año, la mayoría de ellos muere sólo porque sus cánceres no fueron detectados en el primer 90% de su desarrollo, cuando era posible su eliminación por la cirugía.

El nuevo conocimiento de la genómica del cáncer permite la búsqueda de tratamientos mas eficaces en el estado avanzado, pero no ha trascendido a otros campos de la lucha contra el cáncer. Un conjunto limitado de genes *drivers* y de rutas de señalización es responsable de la mayor parte de los cánceres, y estos, ofrecen un gran potencial para el diagnóstico temprano. Los genes, los productos que codifican estos genes y los productos finales de las rutas afectadas, son en principio detectables de muchas maneras, incluyendo análisis de fluidos

corporales, como orina en los cánceres genito-urinarios, esputos en el cáncer de pulmón, heces en cánceres gastrointestinales etc. Igualmente interesantes, son las posibilidades que ofrecen las nuevas técnicas de la imagen a nivel molecular, las cuales, no indican la presencia de un cáncer sino que revelan su posición y extensión. Por otra parte, la investigación sobre la relación entre determinados influencias del ambiente (dieta y estilo de vida) y las alteraciones genéticas en cáncer es escasa, a pesar de su potencial en la toma de medidas preventivas.

Las razones por las que la sociedad invierte tanto en las investigaciones sobre la curación de cánceres avanzados en relación con la prevención y el diagnóstico temprano son complejas. Desde un punto de vista técnico el desarrollo de métodos nuevos y mejores para la detección temprana y la prevención no es fácil, pero no hay razón para asumir que sea más difícil que el desarrollo de nuevas terapias destinadas al tratamiento de la enfermedad metastásica.

Creemos que las muertes por cáncer podrían reducirse por más del 75% en las próximas décadas, pero esta reducción vendrá sólo si se realizan grandes esfuerzos en el campo de prevención y detección temprana.

Conclusiones

1. La mayoría de los cánceres humanos son causados por un número pequeño (2-8) de alteraciones secuenciales que se desarrollan en el curso de 20-30 años.
2. Cada una de estas alteraciones causa una ventaja selectiva en el crecimiento de la célula en la que reside.
3. Hay aproximadamente 140 genes cuyas mutaciones intragénicas contribuyen al cáncer. Hay probablemente otros genes que son alterados por mecanismos epigenéticos que también causan una ventaja selectiva en el crecimiento, pero su identificación está mucho menos avanzada.
4. Los genes *driver* identificados, funcionan a través de una docena de rutas de señalización celular que regulan los tres procesos celulares básicos: determinación del tipo celular, supervivencia y mantenimiento de la integridad del genoma.
5. Cada tumor individual es diferente, con respecto a sus alteraciones genéticas, pero las rutas de señalización afectadas en diferentes tumores son las mismas.
6. Existe siempre una heterogeneidad genética entre las células de un tumor individual que puede afectar a la respuesta terapéutica.
7. En el futuro, el mejor plan para manejar un paciente con cáncer vendrá de la información proporcionada por el conocimiento del genoma de la línea germinal del paciente y del genoma de su tumor.
8. La información de los estudios sobre genómica del cáncer pueden también ser empleados para mejorar los métodos de prevención y detección temprana del cáncer, lo que tendrá un gran impacto en reducir la morbilidad y la mortalidad.

Desarrollo perinatal del cerebro. Un paso esencial para el establecimiento de la inteligencia

José María Medina

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.

e-mail: edicion@ranf.com

Recibido el 13 de abril de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 1 (2013), pag. 44-68

FISIOLOGIA Y CONTROL CEREBRAL DEL COMPORTAMIENTO. Mesa Redonda celebrada en la Real Academia Nacional de Farmacia el día 29 de noviembre del 2012. Coordinadora: A. M. Pascual-Leone Académica de Número de la RANF.

RESUMEN

El desarrollo del neuroepitelio durante la etapa embrionaria es un paso obligado para el desarrollo del Sistema Nervioso Central. Sin embargo, en la especie humana el desarrollo del cerebro continúa en las cercanías del parto y, muy particularmente, durante el período postnatal inmediato. Esta última etapa del desarrollo tiene lugar de una forma destacada en la pared de los ventrículos laterales y es esencial para el refinamiento de la estructura del córtex. En este sentido, la contribución de este período del desarrollo a la complejidad del neocórtex se considera fundamental en el desarrollo de la inteligencia en la especie humana.

Palabras clave: Perinatal; Cerebro; Inteligencia.

ABSTRACT

Perinatal development of the brain. An essential event for the flourishing of intelligence

The development of neuroepithelium during the embryonic period is a mandatory step in the CNS development. However, in the human brain development continues around birth and, particularly during the early postnatal period. During this time brain development takes place mainly in the lateral ventricle walls and results in the refining of cortex layers. Thus, the development of neocortex during postnatal period seems to be essential in the flourishing of intelligence in the human species.

Keywords: Perinatal; Brain; Intelligence.

1. INTRODUCCIÓN

La localización y origen de la inteligencia humana ha sido una preocupación científica ancestral, primeramente explicitada por Aristóteles, con su concepto del alma. Más recientemente, es bien conocida la controversia que, con respecto a la aparición de la mente, mantuvieron Wallace y Darwin. Según el primero, la mente apareció de forma súbita mediante la intervención divina, mientras que para Darwin la mente apareció paulatinamente como un perfeccionamiento más de nuestras funciones cerebrales. En este sentido, Darwin propone, en "The Descent of Man", que el hombre ha mejorado paulatinamente las capacidades de sus predecesores, de tal manera que resulta del desarrollo de los primates, una de cuyas ramas adquirió progresivamente la inteligencia.

Esta hipótesis del crecimiento paulatino de la inteligencia fue ampliada por T.H. Huxley, en el sentido de que la evolución del cerebro ha seguido un patrón cuantitativo ("la cantidad es lo que vale"). Al establecer la doctrina de la continuidad propone que a un aumento de tamaño del cerebro le sigue el crecimiento de la inteligencia. De esta manera impulsó la teoría de la encefalización, que intenta demostrar la desproporción existente entre el tamaño de nuestro encéfalo y aquél que nos correspondería dado nuestro tamaño corporal.

Curiosamente, el proceso de encefalización comienza en los prosimios, puesto que los lemures tienen ya una encefalización que podríamos calificar de "media". Son, sin embargo, los simios, es decir, los primates antropoideos, los que destacan por su avanzada encefalización. Aún es más esclarecedor el hecho de que la encefalización se centra principalmente en el crecimiento del lóbulo prefrontal, allá donde hoy sabemos radica la inteligencia, y que en los primates alcanza un especial grado de desarrollo.

En efecto, fue Elliot Smith el primero en proponer la idea de que el área prefrontal, exclusiva de los primates, podría ser el sustrato donde se desarrollara la mente. En este sentido, Brodman propuso que la transformación de los primates en los homínidos fue consecuencia de la evolución del área prefrontal. Concretamente, de la zona dorsolateral, en donde aparece una capa nueva del córtex, la lámina IV, repleta de células granulares. Esto explica, asimismo, la formación de las numerosas circunvoluciones cerebrales, causadas por el crecimiento masivo de las capas más externas del córtex.

De hecho, el *Australopithecus africanus*, a pesar de poseer sólo 450 gramos de encéfalo y tener, posiblemente, una estructura cerebral diferente de la del hombre actual, tenía muy desarrollado el sector orbital del lóbulo frontal, puesto que quedan señales de ello en los fósiles encontrados. En este sentido, es en el lóbulo frontal donde se ha propuesto radica la denominada *Teoría de la Mente*, que se define como aquélla que dirige nuestro comportamiento, teniendo en cuenta lo

que creemos que los demás piensan de nosotros, así como el estado de la situación presente. Asimismo, el lóbulo frontal controla todas aquellas capacidades que constituyen la inteligencia. En él, además de controlarse las emociones, radica nuestra capacidad de concentración, anticipación y planificación, así como el control de la memoria. En resumen, en el lóbulo frontal se elaboran y mantienen las ideas, la característica esencial de nuestra mente.

Por consiguiente, no es de extrañar que el habla, posiblemente la característica más distintiva del hombre, también se localice en el área prefrontal. En este sentido, se acepta de una manera general que el lenguaje y la inteligencia están fuertemente unidos. Si esto es así, sólo el *Homo sapiens* ha sido inteligente. En efecto, para que se produjese este cambio revolucionario, el Homo tuvo que sufrir importantes cambios anatómicos. La laringe hubo de descender para emitir los primeros sonidos guturales. Este hecho tuvo lugar tan lejos como en el *Homo ergaster* (1,8 millones de años). Sin embargo, la calidad de estos sonidos no permitía más que una comunicación deficiente, muy lejana de la utilizada por el hombre actual. Era necesario ser capaz de pronunciar las vocales, verdaderos pivotes en los que se sustenta el lenguaje. Según Arsuaga esto aconteció más tarde, en el *Homo sapiens*, gracias al acortamiento horizontal del aparato fonador (aproximadamente hace 300.000 años) (Arsuaga y Martínez 1998).

En resumen, sólo a nuestros antecesores más cercanos podemos considerarlos como plenamente inteligentes, aunque se trata de la coronación de un proceso, el de la aparición de la inteligencia, que comenzó años atrás.

Así, la “inteligencia tecnológica” data de hace 2,5 millones de años, momento en que se fabrican los primeros utensilios de piedra. Un millón de años más tarde (hace 1,5 millones de años) se llega a la perfección con el hacha lítica de dos caras simétricas. Un millón más es necesario para otro paso definitivo, la invención del fuego (0,25 millones de años). Esta época coincide con los primeros enterramientos (0,3 millones de años), señal de que en este tiempo nuestros antepasados poseían el sentido de la trascendencia.

Es necesario destacar que el sentido de la trascendencia es una de las claves de la existencia de la mente, por lo que podemos datar hace 300.000 años, el nacimiento de la “inteligencia filosófica”, verdadera clave de la mente. A partir de este momento se comienzan a pronunciar las vocales, imprescindibles para una comunicación coherente y fluida.

Más tarde, los indicios de la mente empiezan a aparecer por doquier. El adorno personal (35.000 años) y las maravillosas pinturas de Altamira y Lascaux (17.000-14.000 años) son un buen índice de ello.

2. TAMAÑO Y COMPLEJIDAD: REQUISITOS PARA EL DESARROLLO DE LA INTELIGENCIA

Es evidente que un sistema tan sofisticado como el que denominamos inteligencia debe estar instalado en un sustrato biológico único. Por consiguiente, debemos esperar que la inteligencia esté soportada por una estructura compleja y con la suficiente extensión como para acoger la “maquinaria” necesaria para mantener las sutiles habilidades que en su conjunto denominamos “inteligencia”.

No es extraño, pues, que nuestro cerebro presente estas dos características, las que hemos definido como tamaño y complejidad, características que van a ser necesarias para que la especie humana alcance esta cualidad que nos distingue de todo el resto del reino animal.

2.1. El salto neoténico: en busca de la libertad estérica

Resulta paradójico que nuestra especie, supuestamente la más evolucionada, accede a la vida extrauterina con un retraso evolutivo con respecto a especies inferiores en la escala filogenética.

Siempre nos ha sorprendido comprobar cómo la mayoría de las otras especies traen a este mundo a sus hijos plenamente capacitados para funciones tan elementales como la de seguir a su madre o buscar el alimento. Así, el cervatillo, aunque torpemente, se levanta inmediatamente tras su salida del seno materno para, primero con dificultad y más tarde con precisión, encontrar las ubres maternas. Pero no sólo llega a este mundo con habilidades olfativas y motoras, sino con la suficiente coordinación instintiva como para conocer a su madre entre miles de sus congéneres.

Por el contrario, nuestro recién nacido es ciego, inválido para moverse en busca de su sustento y dependiente de la madre durante años, siendo incapaz siquiera de acercarse a la boca de la madre con la que su madre le ofrece su primer alimento. Por no citar su indefensión, que le obliga a descansar en sus padres su protección y defensa hasta bien alcanzada la pubertad. Sin embargo, este aparente retraso evolutivo no es más que un mero guiño de la Naturaleza, algo aparente tras lo cual se esconde uno de los mayores logros de los seres vivientes, tan importante que les ha permitido desarrollarse hasta el extremo de ser conscientes de sí mismos y de llegar a preguntarse acerca del misterio de su existencia, procedencia o futuro. Les ha permitido generar aquello que los iguala a los dioses, aquello que es el origen de sus innegables éxitos, aquello que los ha hecho superiores, aquello que los ha hecho, en una palabra, inteligentes.

Pero para llegar a esta sorprendente conclusión deberemos profundizar en el *tempus* del desarrollo de nuestro Sistema Nervioso, para ver cómo nuestra especie ha escogido un certero diseño para su desarrollo, aunque envuelto en una aparente estela de retraso y precariedad. Porque, en un principio, todo parece

falsar nuestra hipótesis. Así, el peso del cerebro de nuestro recién nacido es muy inferior al del adulto, en una proporción muy lejana a la mayoría de las especies. De hecho, la mayoría de los mamíferos son "precoces", es decir, su cerebro se desarrolla pronto en el seno de la madre. Por el contrario nuestra especie es claramente "no precoz", puesto que el 80% de su desarrollo se realiza tras el parto, a lo largo de los cuatro primeros años de vida extrauterina (Figura 1).

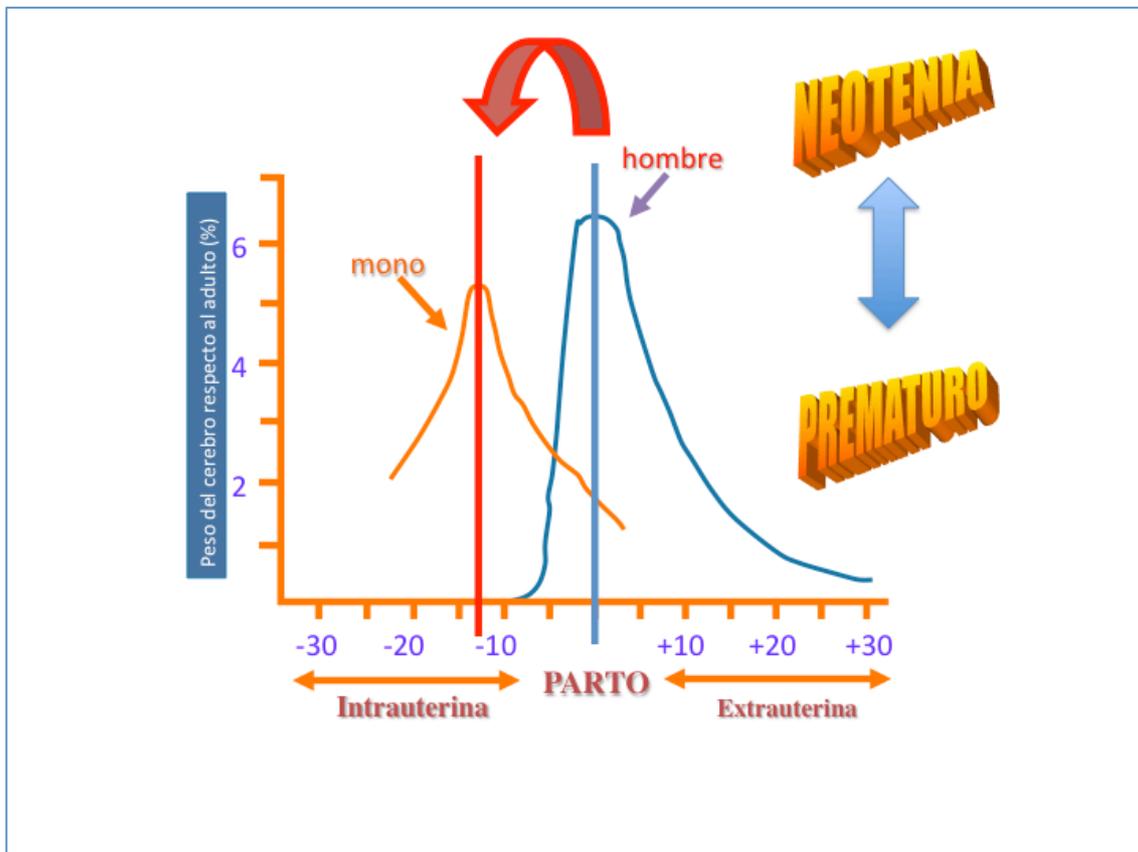


Figura 1.- Vida intrauterina-extrauterina. Modificado de Dobbing and Sands (1979) Early Hum Devel 3: 79-84.

Es necesario resaltar que todo parece aconsejar el desarrollo intrauterino, puesto que en el seno de la madre el feto se encuentra perfectamente protegido de las agresiones fisicoquímicas externas. En este entorno, termorregulado y amortiguado, el desarrollo transcurre armónicamente, sin distorsiones ni influencias indeseables. Es más, los monos, es decir, nuestros más cercanos predecesores en el árbol evolutivo, han optado por la precocidad, puesto que consuman el desarrollo de su cerebro mucho antes de acceder a la vida extrauterina. Pero olvidamos que la evolución es la antítesis del confort, puesto que la selección natural es, sin duda, el paradigma del cambio.

Pensaremos, quizás, que el peso del cerebro (Figura 1) es un burdo índice del desarrollo cerebral y que, si investigamos a fondo, encontraremos en nuestro recién nacido un Sistema Nervioso avanzado en su dimensión microscópica

aunque inmaduro en su aspecto anatómico. Nada más lejos de la realidad; si utilizamos herramientas moleculares que nos hablen del grado de desarrollo bioquímico del cerebro de nuestro neonato, nos encontramos con un panorama semejante. Así, las enzimas de la glucólisis, quizás el proceso bioquímico evolutivamente más antiguo, muestran una inmadurez palmaria en nuestro neonato, aunque están plenamente desarrolladas en las especies precoces antes indicadas. Nuestra especie, por el contrario, tiene que esperar meses de vida extrauterina para conseguir un grado de desarrollo similar al de las especies precoces.

Resistiéndonos a aceptar el retraso de nuestra especie, pensaríamos que las células del cerebro de nuestro recién nacido puede que sean más primitivas, pero quizás más eficientes, en sus funciones nerviosas. No obstante, tenemos que rendirnos a la evidencia de que el cerebro de nuestro recién nacido es claramente inmaduro, puesto que el número de conexiones sinápticas es muy bajo en el momento del nacimiento.

De hecho, la mayor parte de las interconexiones neuronales se llevan a cabo postnatalmente, acompañadas del crecimiento del entramado glial. Podríamos argüir, sin embargo, que el desarrollo bioquímico, celular o sináptico, no tiene paralelismo con el desarrollo de la inteligencia y que, por consiguiente, toda inferencia al respecto tiene, a lo más, un interés anecdótico.

Pues bien, el difícil reto de la valoración del grado de inteligencia del recién nacido fue abordado por Morgan (Morgan, 1979) en un intento de evaluar tanto el “tempo” como el “tempus” del retraso mental producido en el Síndrome de Down. Para ello, estudió el desarrollo del coeficiente de inteligencia en recién nacidos normales, con objeto de conocer la influencia del Síndrome de Down en el desarrollo cognitivo. De acuerdo con sus datos, el coeficiente intelectual crece en el recién nacido tras el parto, en un rápido ascenso que es prácticamente anulado por la enfermedad. Por otro lado, el retraso en el desarrollo intelectual producido por el Síndrome de Down coincide con cambios en el contenido lipídico del cerebro del enfermo, relativo a una caída de los ácidos grasos monoinsaturados, así como con una disminución de las conexiones sinápticas (Shah 1979, Elul et al. 1975).

Es evidente, pues, que nuestro recién nacido accede a la vida extrauterina con un cerebro inmaduro, un hecho que no parece obedecer a un patrón filogenético, puesto que las especies más cercanas, p.ej. los de la familia *Hominidae*, no lo siguen. Sin embargo, no tenemos que recurrir al invento de nuevas pautas para entender este fenómeno, puesto que, si por un momento olvidamos la paradoja de que los seres más evolucionados lleguen al mundo en tan precarias condiciones y comparamos la situación con otras similares observadas en vegetales o animales, todo nos invita a aceptar que se trata de un caso de neotenia (Medina, 2002).

Como sabemos, la neotenia es un salto evolutivo mediante el cual se impone la persistencia en el adulto de rasgos juveniles que parecen quedar "congelados" durante el desarrollo ontogénico (Milner, 1995). Tenemos ejemplos de rasgos neoténicos en todos los reinos de los seres vivos. Desde las plantas adultas, que conservan características propias de las plántulas, hasta insectos que permanecen en forma de larva durante toda su vida, mientras que sus congéneres se desarrollan más allá del estado pupa. Este fenómeno es también observable en el hombre, que conserva el hirsutismo y la cabeza erecta del feto de los primates.

Por otro lado, la neotenia ha ayudado a explicar, al menos en parte, los saltos evolutivos que nos muestra el registro fósil y que tanto preocuparon a Darwin. Así, resulta inexplicable que ciertas especies hayan perdurado sin cambios aparentes, mientras que otras hayan cambiado profusamente, generando una extensa variedad de especies prole.

Darwin lo atribuyó a que el registro fósil estaba incompleto, sin embargo, los "saltos" son observables aún hoy, que conocemos el registro mucho mejor. Es más, hoy sabemos que los saltos evolutivos no coinciden con las grandes extinciones sino, muy probablemente, con saltos neoténicos. De hecho, la neotenia ha dado base a la teoría "saltista", "episódica" o "puntuista" de la evolución, la cual intenta explicar los saltos evolutivos manifestados por ciertas especies. De hecho, el fenómeno neoténico podría explicar el "efecto fundador", como denomina Mayr a la innovación introducida por ciertas especies, o la aparición de los "monstruos esperanzadores", que según Goldschmidt fueron los grandes mutantes que dirigieron la evolución.

Por consiguiente, la neotenia se considera esencial en la evolución de los primates, ya que el hombre posee numerosas características del feto de los simios. El cuello erecto, la cara plana, los grandes ojos, el hirsutismo, etc. son características presentes en el feto de los simios pero inexistentes en los primates adultos, excepto en el hombre. De hecho, se dice que el hombre es un feto de simio adulto, puesto que conserva muchas de sus características morfológicas. Desafortunadamente, el hecho de tratarse de una similitud aparentemente morfológica ha restado interés a la investigación de las causas y efectos de tal salto neoténico, quedando sin respuesta el cómo, el porqué y el para qué de este fenómeno. Intentaremos dilucidar este misterio en las próximas líneas.

La respuesta a cómo tiene lugar el salto neoténico es bien sencilla: el salto neoténico se produce por el adelanto del parto en la especie humana. Es decir, se trata de un parto prematuro, en el que el feto humano accede a la vida extrauterina inmaduro, posiblemente hacia la mitad del desarrollo normal del feto de simio. No obstante, la neurogénesis es un proceso precoz en el hombre, de manera que, aun prematuro, el feto ha llevado a cabo gran parte de la proliferación neuronal en el momento del nacimiento. Es verdad que aún le quedan por realizar las tareas más

importantes, tales como la diferenciación neuronal y la glial, así como la neurogénesis secundaria y la sinaptogénesis.

Sea como fuere, el supuesto parto prematuro contesta al cómo se ha llevado el proceso neoténico, aunque no al porqué, es decir, a cuáles fueron las causas últimas que provocaron la instauración sistemática del parto prematuro en nuestra especie. Todo parece indicar que el adelanto del parto tuvo lugar como consecuencia de la excesiva encefalización del feto de nuestra especie, que aumentó de tal manera su tamaño que superó la capacidad del estrecho superior de la pelvis (Arsuaga y Martínez, 1998).

A las dificultades originadas por el tamaño del cráneo del feto a la hora del parto hay que añadir las derivadas de la postura erecta que la mujer adopta como consecuencia de la bipedación. Así, en los simios el coxis se sitúa de manera que el orificio pélvico coincide casi en línea recta con la vagina. En la mujer, sin embargo, el feto una vez que atraviesa la pelvis tiene que girar dorsoventralmente para embocar el cuello uterino.

De todas maneras, la instauración de la bipedación y, por consiguiente, la colocación cuasi-sagital de las caderas ocurrió, posiblemente, antes del adelanto del parto, puesto que, si éste se debió a un exceso de encefalización, es a partir del *Homo habilis/rudolfensis* cuando el tamaño del encéfalo se duplica en relación a los simios. En efecto, dado que la cadera de Lucy (*Australopithecus afarensis*) ya se parece mucho a la de la mujer actual, el primer tramo de encefalización, hasta el *Homo habilis/rudolfensis*, en el que se duplica el volumen del encéfalo, tiene lugar cuando la disposición de las caderas ya impide un parto fácil. Es, posiblemente, en este tramo, de aproximadamente un millón de años, cuando se instaura el parto prematuro.

La instauración de esta pauta en el adelanto del parto se llevó a cabo, posiblemente, bajo las crueles reglas de la selección natural. Aquellas mujeres en que se le adelantó el parto sobrevivieron junto a su prole. En las que fisiológicamente siguieron su curso, el tamaño del encéfalo impediría el parto provocando, posiblemente, la muerte de ambos, madre y feto.

Una visión menos catastrofista y, posiblemente, más real, propondría que el excesivo volumen del encéfalo con respecto a la edad gestacional provocaría el parto prematuro a través de los mecanismos habituales. Quizás el elevado volumen del feto presionaría la decidua aumentando la producción de PAF ("platelet activation factor"), induciendo la secreción de las prostaglandinas F2 α y E2, lo que incrementaría los efectos de la oxitocina sobre las contracciones del útero. Si fuese así, se salvaría la vida de la madre y del hijo, además de dar un salto genial en el desarrollo de nuestra especie.

En resumen, el excesivo tamaño del encéfalo junto con la estrechez de la pelvis provocada por la bipedación provoca el adelanto del parto, lo que resultaría en un salto neoténico (Figura 1). Curiosamente, esta idea del adelanto del parto ya fue enunciada en 1977 por el célebre naturalista Stephen Gould (Gould, 1977), aunque no fue tomada en cuenta dado lo exagerado de su propuesta, puesto que proponía que el feto humano había accedido a la vida extrauterina con más de un año de adelanto. Sea como fuere, las ventajas a largo plazo de este hecho son evidentes, puesto que la encefalización puede continuar postnatalmente de manera ilimitada, hasta el punto de que el *Homo sapiens sapiens* triplica el coeficiente de encefalización de los demás simios. Por consiguiente, el adelanto del parto puede ser la clave de la alta encefalización de los homínidos, que permitió el desarrollo cerebral sin restricciones y que, por lo tanto, dio paso a la aparición de la inteligencia (*vide infra*).

Podemos resumir nuestra hipótesis como sigue: conocemos que la bipedación es tan antigua como la de los *Ardipithecus* (5,5-4,5 millones de años). Por consiguiente, la mujer homínida es erecta desde hace 5-6 millones de años, lo que conduce a una adaptación del "aparato" pélvico, de manera que el estrecho superior se va haciendo progresivamente más circular. Asimismo, la pelvis se va alargando hacia la zona ventral, tomando una forma muy femenina, es decir, se diferencia cada vez más de la del macho, adoptando una forma característica que se ha denominado "hiperfemenina", no existente en otros simios. Este hecho es ya ostensible en los *Australopithecus*, puesto que sus hembras tienen el estrecho superior muy poco ovalado y su pelvis se alarga ventralmente, tomando la forma típicamente hiperfemenina.

Por consiguiente, aproximadamente 2 millones de años después de la aparición de la bipedación, la mujer ha adaptado su pelvis para el difícil parto a que le obliga la adopción de la posición erecta. La bipedación ha impuesto una pelvis situada en una posición casi paralela al suelo, con objeto de balancear los pesos durante la bipedación, cuando uno solo de los pies sostenga el tronco durante el desplazamiento. Así, las claras ventajas de la bipedación imponen a la mujer la servidumbre de una postura de la pelvis que dificulta el parto. En este sentido, el feto humano tiene que girar casi 90 grados para embocar la vagina tras su paso por el hueco pélvico, muy diferente de los simios en los que la posición inclinada de la pelvis sitúa el orificio pélvico y la vagina en una misma dirección (Figura 2).

Esto quiere decir que a partir de Lucy (*Australopithecus afarensis*; 3,3 millones de años) la mujer está preparada para el difícil parto a que le obliga la bipedación. No es de extrañar, por tanto, que a partir de este momento se acelere la encefalización, duplicándose el volumen del cerebro en apenas 1 millón de años. Dado que la cesárea no es aún practicable, la única solución es la de adelantar el

parto, de manera que el cráneo del feto, aún pequeño, pueda atravesar la pelvis por el estrecho superior y acceder a la vida extrauterina indemne, aunque para ello deba ser, al principio, un ser inmaduro y desvalido. Progresivamente, la selección natural favorece a las mujeres que adelantan el parto, hasta que la prematuridad se implanta como algo natural, confundándose con la duración "normal" de la gestación en nuestra especie. Se abre paso a la encefalización postnatal que, al no estar limitada estéricamente, inicia un camino de amplios horizontes que va a finalizar en la creación de la mente. Sin embargo, el camino neoténico es peligroso, puesto que el recién nacido neoténico es inmaduro y extremadamente vulnerable al entorno extrauterino.

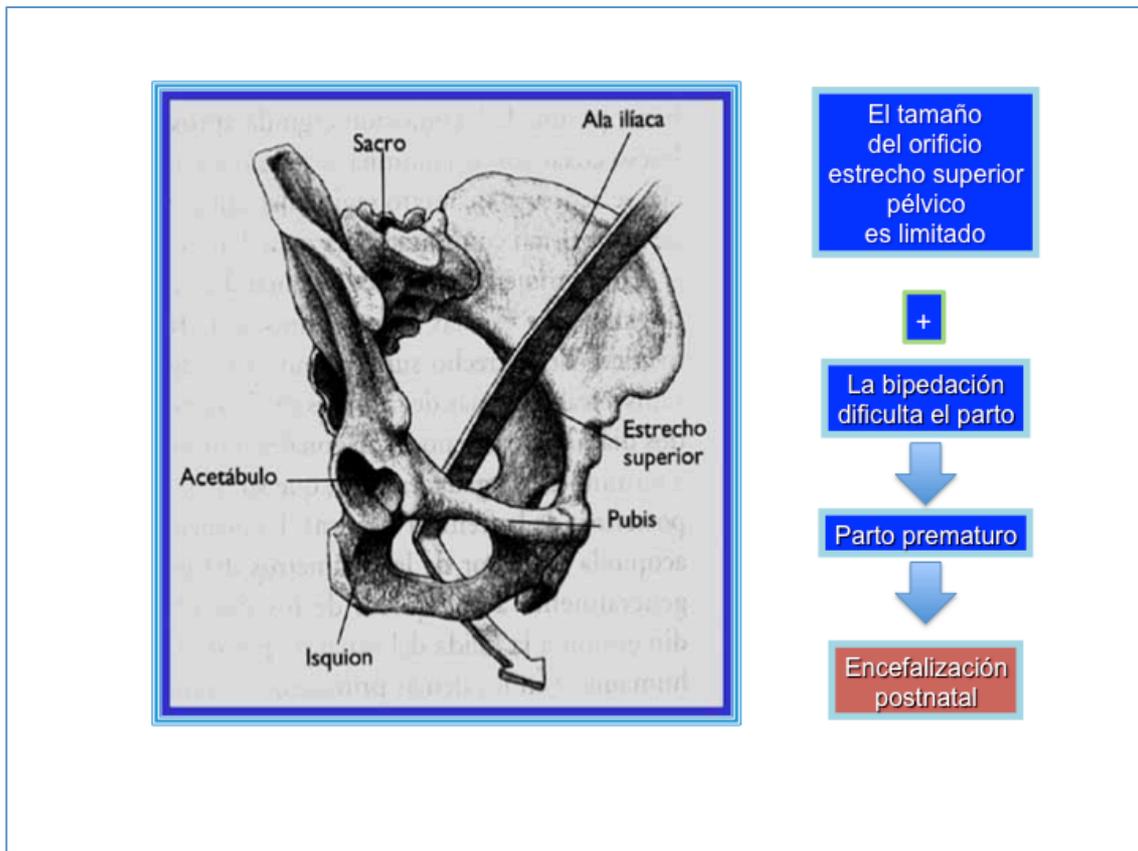


Figura 2.- Orificio pélvico. Dibujo de Arsuaga y Martínez (1998). "La especie elegida", Ediciones Temas de Hoy S.A. Madrid.

Pero siguiendo la apuesta evolutiva se apuesta por el riesgo, se apuesta por lo difícil. Puesto que el premio puede ser importante, el premio puede ser algo nunca visto hasta ahora, algo nuevo destinado a revolucionar el planeta. Se trata de la generación de la inteligencia, se trata del nacimiento de la mente. Es más, el propio camino, lleno de peligros e incertidumbres, va a dar resultados beneficiosos inesperados. Así, la dependencia paterna de nuestro recién nacido, motivada por su necesidad de protección y ayuda, le obliga a convivir con sus padres durante un largo período de tiempo. Entre tanto, sus padres no se limitan a cuidarlo en sus

necesidades físicas y nutricionales, sino que aprovechan el tiempo para transmitirle sus experiencias y habilidades, advertirle de los peligros, enseñarle la tecnología, los métodos cinegéticos, etc.

Se inicia, pues, la civilización, en la que se dan pasos adelante basándose en las experiencias de los predecesores; se aprende de los antecesores evitando repetir experimentos fallidos o inútiles. Es más, a partir del *Homo ergaster* comienza la comunicación oral, primero con gruñidos y, posteriormente, en el *Homo sapiens*, con palabras claras y de creciente complejidad. Este hecho permitirá transmitir a la prole conocimientos y experiencias no vividas por uno mismo. Por consiguiente, con independencia del grado de desarrollo alcanzado, la dependencia paterna será civilizadora, además de contribuir al agrupamiento social que tanta importancia ha tenido en el desarrollo intelectual de nuestra especie.

La encefalización postnatal presenta, asimismo, ventajas extraordinarias para el desarrollo cerebral. Fuera del seno materno el recién nacido recibe una mayor cantidad de estímulos que, por "feedback", van conformando el cerebro, aumentando el número de interconexiones neuronales y, en consecuencia, creando el complejo entramado nervioso que abrirá paso a la inteligencia. En este sentido, es un hecho bien conocido que el Sistema Nervioso requiere estímulos externos para su desarrollo, a los que responde creando nuevas conexiones interneuronales.

Así, sabemos que el estímulo de la luz es necesario para la creación de las vías nerviosas del sistema visual, así como que la "estimulación precoz" mejora el curso de los niños con determinadas secuelas neurológicas. Pues bien, cuando se accede a la vida extrauterina, los estímulos externos se constituyen en conformadores del Sistema Nervioso, cincelándolo hasta lograr los grados de perfección estructural y funcional que conocemos en el adulto. Todos los estímulos son aprovechados para que el tejido nervioso se desarrolle de manera que pueda dar cuenta de las difíciles tareas a las que deberá enfrentarse. Y este sistema es tan eficiente que el recién nacido aprende con prontitud a reconocer en la cara de la madre tristeza o alegría. Se establece pronto una relación enriquecedora entre el neonato y su entorno, que implementa no sólo su evolución intelectual sino, sin duda por ello, el desarrollo del sustrato material que lo sustenta.

2.2. Encefalización: en busca del tamaño necesario

Como hemos mencionado antes, la encefalización, es decir, el crecimiento desproporcionado de nuestro encéfalo con respecto a nuestro peso corporal, ha preocupado a los antropólogos, dado que parece una característica de los homínidos directamente relacionada con la aparición de la inteligencia. Es necesario mencionar que la encefalización no es una característica exclusiva de los

homínidos, pues todos los mamíferos e, incluso, las aves, han incrementado su índice de encefalización a lo largo de la evolución filogenética.

Sin embargo, ha sido en los simios y, particularmente en los homínidos (Figura 3), donde este fenómeno se ha dado con una especial relevancia. De hecho, el índice de encefalización se ha triplicado en el *Homo sapiens sapiens* con respecto a los primates más cercanos, es decir, los chimpancés, los bonobos y los gorilas (i.e. los otros componentes de la familia *Hominidae*). Por consiguiente, es muy posible que una vez que el cerebro haya adquirido el tamaño necesario se haya desarrollado suficiente complejidad como para albergar funciones más allá de las puramente fisiológicas.

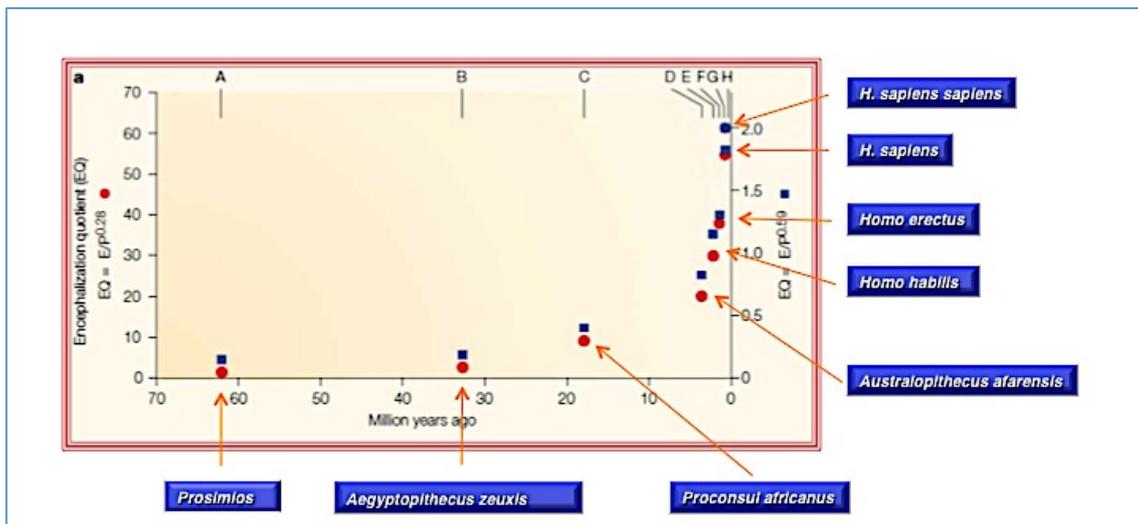


Figura 3.- Crecimiento del índice de encefalización. Modificado de Gilbert et al (2005) Nature Reviews Genetics 6: 581-590.

Estudios recientes (Gilbert et al. 2005) han mostrado que ciertos genes ejercen una fuerte influencia en el volumen del cerebro, especialmente en lo que se refiere a los lóbulos frontales, el córtex somatosensorial y las áreas de Broca y de Wernicke, responsables, estas últimas, del habla. Así, el gen ASPM (“abnormal spindle microcephaly associated”) parece responsable de la encefalización de los homínidos, habiendo sufrido una fuerte selección natural durante los últimos 18 millones de años y, muy especialmente, durante los últimos 6 millones de años, coincidiendo con el período de mayor encefalización de los homínidos (Evans et al. 2004).

Es interesante constatar que la penúltima mutación del gen tuvo lugar hace 37.000 años, coincidiendo con la aparición de las pinturas murales, normalmente asociadas con la aparición de la inteligencia y, la última, hace 6.000 años, coincidiendo con la aparición de las primeras grandes civilizaciones (Evans et al. 2005). De hecho se acepta de una manera general que este gen es el responsable

de la encefalización ocurrida entre los grandes monos y el hombre, mientras que otro gen relacionado, el MCPH1 (“Microencephalin1”), sería el responsable de la encefalización en el período evolutivo entre los simios y los grandes monos.

Sin embargo, más recientemente el grupo de Lahn (Mekel-Bobrov et al. 2005) ha puesto de manifiesto que, aunque ambos genes son responsables de la encefalización en los homínidos, su evolución no está directamente relacionada con la aparición de la inteligencia, ya que no existe relación entre los cambios evolutivos de estos genes y el coeficiente de inteligencia de los 2.393 individuos analizados.

Estos genes, han sido descubiertos por su implicación en enfermedades relacionadas con el desarrollo cerebral denominadas microcefalias, que se caracterizan por un crecimiento anormalmente bajo del volumen cerebral, causado por la proliferación anormal de los neuroblastos.

Las microcefalias (MCPH) son unas enfermedades autosómicas recesivas que se caracterizan por una reducción del volumen encefálico, sin grandes cambios en la distribución de la masa encefálica, a excepción del córtex, que está sensiblemente disminuido aunque manteniendo la arquitectura normal. Están también afectados el giro dentado, el bulbo olfatorio y la corriente migratoria rostral. Se acompaña de retraso mental de carácter ligero o medio (Bond et al. 2002).

Desde el punto de vista genético, las microcefalias se encuentran ligadas a mutaciones en cinco *loci* recesivos, aunque sin diferencias aparentes en el fenotipo. Están causadas por la mutación del gen ASPM, ortólogo del *asp* de *Drosophila*, localizado en cromosoma 1p31 y que codifica una proteína MAP (“microtubule associated protein”). La proteína, que posee un extremo amino terminal conservado en *Drosophila*, se une a los microtúbulos en un dominio repetitivo IQ (Ile y Gln repetidos) de unión a la calmodulina. Este último dominio se repite 24 veces en *Drosophila* y 74 veces en la proteína humana, debido a la inserción de 10 repeticiones IQ en el exón 18. La pérdida de 425 aminoácidos, incluido el carboxilo terminal, produce la enfermedad, lo que sugiere que las todas las repeticiones IQ son necesarias para el correcto funcionamiento de la proteína (Bond et al. 2002).

La expresión de la proteína tiene lugar, fundamentalmente, en la zona ventricular del córtex y, en el ratón, comienza el día 11 de la fase embrionaria (E11), mostrando su expresión máxima a E15 y descendiendo a partir de E17. La expresión de la proteína es muy baja en el día del nacimiento (P0) y el día P9 está limitada a la zona subventricular, giro dentado y corriente migratoria rostral, es decir, las áreas en las que continúa la neurogénesis tras el parto (Bond et al. 2002).

La localización de la proteína y su perfil temporal de expresión indican claramente que la proteína está implicada en la regulación de la neurogénesis.

De hecho, la proteína está implicada en la mitosis, concretamente en el ensamblaje de los microtúbulos en los polos y en el ecuador del uso cromático. Así, la mutación de la ASPM causa la parada de la división de los neuroblastos en metafase, lo que lleva consigo una disminución de la expansión del córtex. De hecho, si la división de los neuroblastos tiene lugar de manera simétrica, con el huso cromático paralelo al plano del neuroepitelio, se originan dos neuronas, mientras que si lo hace asimétricamente, es decir, perpendicular al neuroepitelio, se genera arriba una neurona y abajo una célula progenitora. Las mutaciones de ASPM parecen impedir la división asimétrica, responsable final de la expansión del córtex (Bond et al. 2002) (Evans et al. 2004).

2.3. Adquisición de la complejidad

Como hemos mencionado antes, el tamaño del encéfalo es necesario para el desarrollo del cerebro, dado que su estructura requiere un mínimo espacio necesario para la construcción del sustrato donde radicará un sistema tan sofisticado. Sin embargo, sin la complejidad necesaria el espacio quedaría vacío e impotente para cumplir sus destacados fines.

2.3.1. Desarrollo del córtex durante la etapa embrionaria

En los comienzos del desarrollo embrionario el tubo neural está formado por una capa de células que permanece más o menos estable hasta que el tubo neural se ha diferenciado, en lo que se ha denominado: tubo neural en cinco vesículas. Llegado este momento, se inicia la proliferación celular del epitelio comenzando por la zona más cercana al ventrículo, es decir, la denominada zona ventricular. De hecho, el neuroepitelio está formado por una sola clase de células alargadas que, en un momento dado, retraen sus procesos hacia la zona ventricular, donde entran en mitosis. Las primeras células en diferenciarse son las células gliales radiales, que extienden sus procesos perpendicularmente a la superficie del neuroepitelio a la que, finalmente, alcanzan (Figura 4).

De esta manera, extienden sus procesos en toda la anchura del neuroepitelio, constituyendo el “andamio” por el que las neuronas van a trepar en busca de destinos más lejanos. En efecto, las neuronas primordiales se disponen en estratos y comienzan a avanzar hacia la superficie del neuroepitelio, trepando por los procesos de las células gliales radiales para, finalmente, constituir las diversas capas (Figura 4) en las que se distribuyen las células en el córtex (Squire et al. 2003). Gracias a que las células gliales radiales poseen un antígeno específico, denominado RC2 (“intermediate filament-associated protein”, también Ifaprc2), de aparición precoz, se conoce que la diferenciación de las células gliales radiales es el fenómeno que inicia la neurogénesis (Tramontin et al. 2003).

En la zona ventricular las neuronas proliferan y, cuando salen de la mitosis, generan una capa en la que se excluyen los núcleos, denominada zona marginal, que está destinada a ser la más lejana del ventrículo cuando termina la diferenciación definitiva de la corteza cerebral. En este estadio, por consiguiente, el neuroepitelio está formado por dos zonas: la zona germinal cercana al ventrículo y, por encima de ella, la zona marginal, formada por los axones emitidos por las neuronas próximas a la zona germinal.

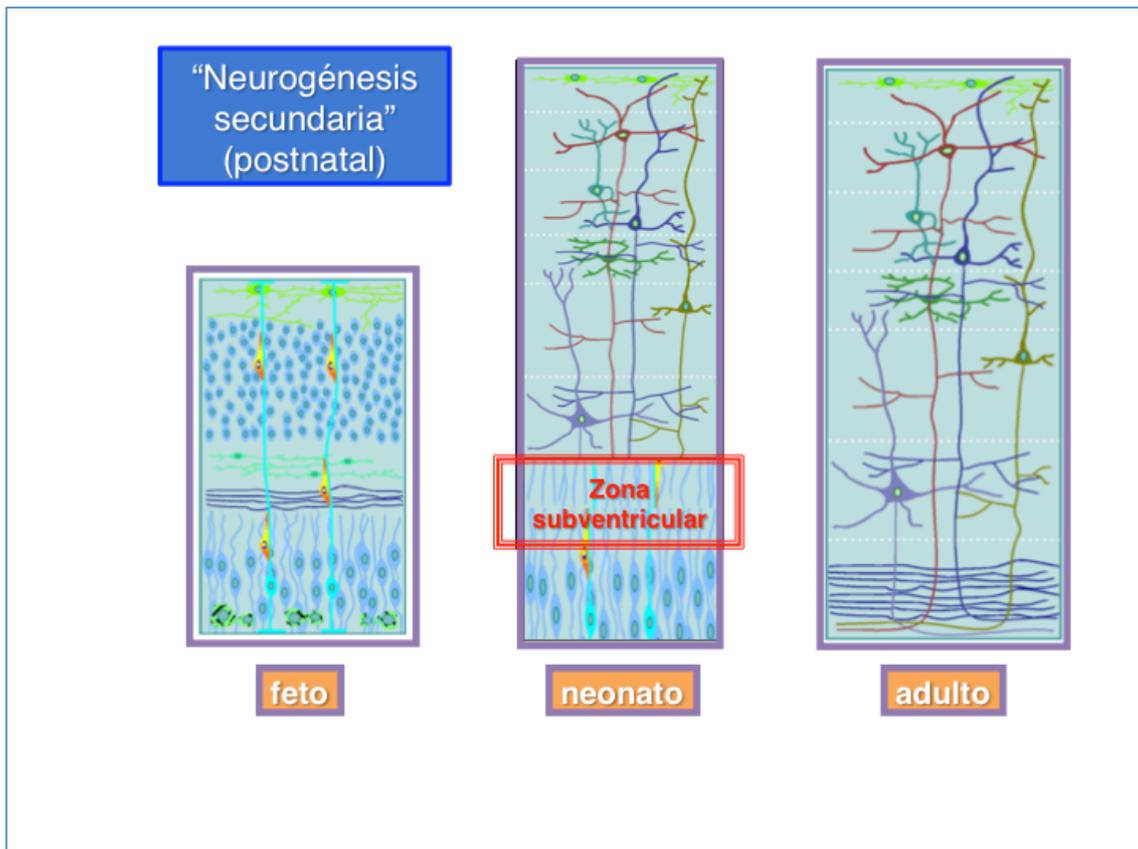


Figura 4.- Neurogénesis secundaria. Modificado de Squire et al (2003) Fundamental Neuroscience, Academic Press. London.

En este momento, algunas neuronas empiezan a alejarse del ventrículo, atraviesan la zona marginal y forman un nuevo estrato denominado preplaca. Entre los axones de la zona marginal y la preplaca aparece un nuevo estrato, denominado zona intermedia. Esta última zona constituirá el contacto de la corteza con el hipotálamo, una vez finalizada la diferenciación del Sistema Nervioso Central.

En resumen, al finalizar esta etapa, el neuroepitelio está formado por tres capas: la zona ventricular, formada por las células proliferativas multipotenciales, la zona intermedia, formada por axones y la preplaca, formada por las neuronas postmitóticas (Figura 4). El proceso continúa mediante la aparición de más neuronas en la zona ventricular que, posteriormente, migran a través de la zona

intermedia a la preplaca, a la que expanden formando la placa cortical. Esta última queda limitada por una nueva zona denominada subplaca, contigua a la zona intermedia, mientras que por el extremo superior le cubre la zona marginal definitiva.

Finalizada la diferenciación, la placa cortical formará los estratos de la corteza cerebral, a excepción de la I (la más externa), que corresponderá a la zona marginal definitiva. Por el extremo inferior, la corteza estará limitada por la materia blanca, y sólo en las denominadas “zonas germinales secundarias” continuará la proliferación. Estas zonas, por su situación próxima al ventrículo y bajo el resto de la corteza, se denominan “zonas subventriculares” (Figura 4). En estos núcleos continuarán la neurogénesis y la gliogénesis durante el período postnatal. De hecho, la neurogénesis secundaria continúa, en el caso del hombre, hasta los dos años, generando interneuronas, tales como las células granulares del cerebelo e hipocampo.

Las interneuronas cerebelosas se forman, asimismo, desde la zona germinal secundaria del cerebelo, aunque ésta última está situada en el exterior de este órgano, puesto que la migración cerebelar es centrípeta. En el proceso de formación de la placa neural intervienen las proteínas de la matriz extracelular, puesto que el déficit de una de ellas, la reelina, segregada por las neuronas de la lámina I del córtex y por las células de Cajal-Retzius (Meyer et al. 1999), impide la separación de la subplaca de la zona marginal definitiva, impidiendo la formación de la placa cortical y de las circunvoluciones cerebrales.

Para llevar a cabo la migración, la neurona adopta una forma bipolar, fielmente paralela al proceso glial. En el extremo más lejano de su lugar de origen comienzan a generarse unas uniones específicas entre neurona y célula glial, denominadas “uniones intersticiales”. Se trata de una estructura diferente a otras uniones intercelulares, consistente en un ensanchamiento del espacio intermembranal, que es ocupado por numerosos filamentos que se inician desde las proteínas de membrana de las neuronas conectadas con el citoesqueleto. Todo parece indicar que las uniones intersticiales sirven de anclaje a la neurona para iniciar la escalada, que se repite una y otra vez hasta alcanzar la ubicación adecuada.

En el proceso glial se expresa una proteína de reconocimiento, denominada astrotactina, que es reconocida por la neurona y que, al parecer, inicia la formación de la unión intersticial. Se trata de una proteína con repeticiones de EGF y de algunos dominios de la fibronectina tipo III. Una vez anclada en el proceso del astrocito, la neurona traslada su soma para avanzar mediante un mecanismo en que intervienen diversos factores, entre ellos una proteína asociada a los microtúbulos denominada doblecortina (Francis et al. 1999). Al mismo tiempo se produce la nucleoquinesis, un fenómeno en el que están implicadas varias

proteínas, entre ellas la dineína y la proteína codificada por el gen LIS1 (“lissencephaly type-1-like domain-containing protein”).

Las neuronas que van a llevar a cabo la migración tangencial abandonan el andamio glial, mientras que la mayoría continúan hasta alcanzar el estrato previsto.

Un hecho fundamental dentro de la migración radial es que, cuanto más jóvenes sean las neuronas, más lejano será su lugar de residencia definitivo, de manera que las primeras que salen de la zona germinal ventricular ocupan los lugares más cercanos, mientras que las que se generan posteriormente alcanzan estratos más externos. Es necesario destacar que el andamio glial es permisivo y no instructivo en cuanto a la diferenciación neuronal. En otras palabras, las células gliales radiales permiten la migración de las neuronas pero no determinan ni su lugar de residencia ni sus características fenotípicas.

En este sentido, la migración neuronal puede consistir en una serie de interacciones célula-célula, en las que la neurona llevaría consigo sus destinos tóxico y fenotípico, usando la glía sólo como guía y soporte. De ser así, la neurona, al detectar la astrotactina, generaría una señal inductora de la síntesis de todas aquellas proteínas necesarias para la migración, mientras que mantendría una señal en la glía para que colaborara en su movimiento. Una vez alcanzado su lugar de destino, la propia neurona silenciaría los mecanismos de migración propios, así como los de la célula glial radial.

La formación de las capas de la corteza cerebral está condicionada por los estratos previamente existentes (Figura 4). Así, las primeras células en proliferar darían origen a la lámina VI, es decir, a la más cercana a la zona ventricular. La diferenciación final de estas células vendría controlada por factores tróficos procedentes de la zona ventricular. Una vez ocupada la primera capa, las células de ésta liberarían factores que marcarían el desarrollo de las células que, procedentes de la zona ventricular, ocuparían la segunda capa. Los factores tróficos procedentes de la primera capa no germinativa regularían la diferenciación de la capa que la cubre, y así sucesivamente. Por consiguiente, cada célula diferenciada liberaría los factores neurotróficos necesarios para la diferenciación de la siguiente capa, generándose un gradiente de factores que pondrían en funcionamiento la expresión de grupos de genes (“subrutinas”) que originarían las características tóxicas y fenotípicas propias de cada capa. La diferenciación de cada una de las capas dependerá de las subrutinas puestas en funcionamiento y del orden en que éstas son inducidas (Meyer et al. 1999).

2.3.2. Desarrollo postnatal del cerebro

El cerebro del recién nacido humano sigue su crecimiento durante el período postnatal, multiplicando por cuatro su peso debido a la proliferación neuronal y glial, con el correspondiente crecimiento de axones, dendritas y

procesos gliales. Por otro lado, la mielinización es un proceso eminentemente postnatal, contribuyendo muy sensiblemente al aumento del volumen y del peso del cerebro del neonato. Este crecimiento se corresponde con un aumento del volumen del cráneo, a la vez que existe un aumento de las circunvoluciones cerebrales, aprovechando eficientemente el espacio disponible. Así, en la etapa postnatal, concretamente durante el primer año, se desarrollan totalmente los denominados surcos terciarios, es decir, las circunvoluciones cerebrales que han aparecido durante los dos últimos meses de la gestación.

La neurogénesis “secundaria”, llamada así porque tiene lugar en la segunda fase de proliferación neuronal, es característica de los vertebrados y en el hombre tiene lugar durante el período postnatal. De hecho, durante la fase postnatal de la neurogénesis se genera un importante número de poblaciones neuronales de gran importancia en el desarrollo final del Sistema Nervioso Central. La proliferación neuronal secundaria se lleva a cabo en las denominadas “zonas germinales secundarias”, áreas del cerebro y del cerebelo que continúan generando neuronas hasta el segundo año de vida.

En el recién nacido, la corteza cerebral está limitada en su extremo inferior por la materia blanca que, excepcionalmente, se interrumpe por las zonas germinales secundarias que, por su situación próxima al ventrículo y bajo el resto de la corteza, se denominan zonas subventriculares (Kostovic et al. 1989). En el caso del cerebelo, estos núcleos o zonas compactas están situados cercanas al labio rómbico, siendo la migración de la nuevas neuronas de carácter centrípeto y no centrífugo, es decir, siguiendo un comportamiento similar al de las neuronas “primarias”.

En estas zonas del cerebro y del cerebelo la neurogénesis y gliogénesis continúan durante el período postnatal, prolongándose en el caso del hombre hasta los dos años de vida. En el cerebro, la zonas subventriculares dan origen a neuronas que emigran al bulbo olfatorio o forman las células granulares del hipocampo, aunque también se forman células gliales de la corteza. En el cerebelo, las zonas germinales subventriculares dan lugar a interneuronas, mientras que las del labio rómbico generan células granulares, que formarán la capa granular interna del cerebelo. Las neuronas “secundarias” generadas en esta segunda fase se intercalan en las estructuras ya existentes creadas durante la neurogénesis primaria, completando así la compleja estructura del Sistema Nervioso Central.

El crecimiento postnatal del número de neuronas tiene lugar principalmente en el córtex, donde, dependiendo de las zonas, el crecimiento neuronal continúa hasta los cinco meses, como en el caso de la corteza visual, o hasta los siete años, como en el córtex frontal. La proliferación neuronal se acompaña del crecimiento de las dendritas, lo que indica que la diferenciación sigue a la proliferación. Así, el número de espinas dendríticas, aquellas estructuras

donde se realizan las sinapsis, aumenta hasta los cinco meses en la corteza visual, coincidiendo con la neurogénesis. De hecho, el número de sinapsis crece exponencialmente tras el nacimiento, multiplicándose por dos entre el segundo mes y el final del primer año. Asimismo, el consumo de glucosa, un excelente índice del metabolismo energético, aumenta significativamente hasta el cuarto año, lo que refleja el esfuerzo sinaptogénico que se lleva a cabo durante este periodo (Johnson, 2001).

La proliferación celular y la neurogénesis continúan en las paredes laterales de los ventrículos laterales durante la vida postnatal, particularmente en las zonas cercanas a las eminencias ganglionares media y lateral. En los roedores (Tramontin et al. 2003), la denominada zona ventricular, única capa del córtex durante la fase embrionaria, continúa proliferando durante la vida postnatal. Así, las células de esta zona entran en fase S y migran hacia el lumen ventricular donde se dividen. En el momento del nacimiento la zona periventricular granular es muy extensa, diferenciándose dos zonas, la zona ventricular y la subventricular, también llamada subependimal. La zona ventricular se caracteriza por expresar noggina, mientras que la zona subventricular expresa DLX2 (“distal less”), un marcador de “precursores secundarios”.

En el momento del nacimiento la mayoría de las células son glías radiales, puesto que expresan RC2, un antígeno específico de estas células, aunque también se observan algunos endimocitos inmaduros. Muy pocas son GFAP positivas, un marcaje específico de los astrocitos de la zona subventricular. A los siete días de vida extrauterina, la proporción de células radiales ha disminuido a favor de los endimocitos inmaduros, lo que sugiere que las glías radiales han dado origen a las células endimales inmaduras. En este estadio comienzan a aparecer las células GFAP positivas, es decir, los astrocitos de la zona subventricular.

Por último, en el día 15 las glías radiales han desaparecido, por lo que la zona ventricular está compuesta por endimocitos maduros e inmaduros (Spassky et al. 2005). En este momento la mayoría de las células son GFAP positivas, lo que sugiere la presencia mayoritaria de astrocitos propios de la zona subventricular (Tramontin et al. 2003).

Por consiguiente, todo parece indicar que las glías radiales son las células madre neuronales, que se transforman en astrocitos de la zona subventricular durante las dos primeras semanas de vida extrauterina. Algunos de estos astrocitos de la zona subventricular, especialmente aquéllos que contactan con el lumen ventricular mediante un solo cilio, mantienen su capacidad pluripotencial y son la fuente de proliferación neuronal durante la etapa postnatal, incluida la vida adulta. La pluripotencialidad se conserva gracias a un ambiente rico en noggina que inhibe los BMPs (“bone morphogenic proteins”), lo que permite la neurogénesis (Tramontin et al. 2003).

Durante la vida adulta, la zona subventricular humana está formada por una capa de endoteliales en contacto con el líquido cefalorraquídeo del ventrículo lateral, sobre la que se asienta una capa de astrocitos específicos de esta zona, algunos de ellos provistos de un cilio que contacta con el lumen ventricular. Estas últimas células son las verdaderas progenitoras, que proliferan para dar neuronas que migran tangencialmente (Merkle et al. 2004) (Quinones-Hinojosa et al. 2006) sin ayuda de la glía radial, en lo que se ha denominado corriente migratoria rostral. Las células de la corriente migratoria rostral forman cadenas de neuronas alargadas que se mueven dentro de “tubos gliales”, cuyas paredes están formadas por astrocitos que entrelazan sus procesos delimitando la corriente migratoria rostral de la zona circundante. Dentro de la corriente migratoria rostral, las neuronas se mueven paralelas a la dirección del flujo del líquido cefalorraquídeo que baña la pared del ventrículo lateral, siguiendo el gradiente de una molécula guía (Sawamoto et al. 2006). De esta manera, estas neuronas alcanzan el bulbo olfatorio donde se diferencian en, al menos, dos tipos de interneuronas, las neuronas granulares y perigranulares.

La corriente migratoria rostral es claramente ostensible en cerebro de rata en el momento del nacimiento, formando una “L” que parte de la zona subventricular en la pared del ventrículo lateral y se dirige ventralmente hacia el estriado, en los alrededores del ventrículo olfatorio para, posteriormente, tomar la dirección rostral hacia el bulbo olfatorio. Más tarde, coincidiendo con la desaparición del ventrículo olfatorio, la corriente migratoria rostral se estrecha progresivamente, formando una “L” que conecta la zona subventricular con el bulbo olfatorio mediante una línea densa de células. Durante el viaje, las células de la corriente están en continua división, observándose un gradiente de proliferación en el sentido caudorrostral, con un máximo en la zona subventricular y un mínimo en el bulbo olfatorio. La corriente migratoria rostral se mantiene durante todo el periodo postnatal y sigue presente en el adulto (Martoncikova et al. 2006). Recientemente se ha descubierto la presencia de la corriente migratoria rostral en el cerebro del hombre adulto, cuyas características son semejantes a las mencionadas anteriormente (Curtis et al. 2007)

Durante éstos últimos años ha subsistido el misterio de cómo estas nuevas neuronas, generadas durante la “neurogénesis secundaria” que tiene lugar en la zona subventricular durante la etapa postnatal, podrían alcanzar su localización tónica, teniendo en cuenta que las células guía, es decir, las células glía radiales, desaparecen una vez estratificado el córtex. Este misterio ha sido resuelto recientemente por el grupo de Monyer (Le Magueresse et al. 2012), que han descubierto que, durante esta etapa, las neuronas utilizan los capilares sanguíneos para alcanzar los estratos indicados de la corteza cerebral durante la migración neuronal secundaria, tanto radial como tangencial (Figura 5).

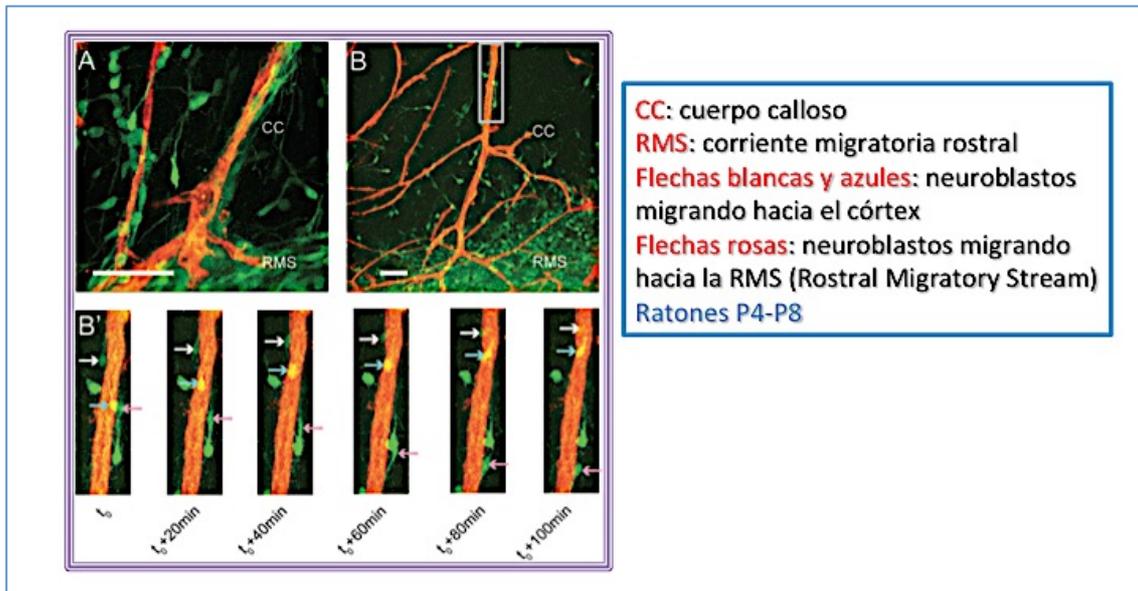


Figura 5.- Durante el período perinatal los neuroblastos migran hacia el córtex usando el sistema vascular como guía. Le Mageresse et al Cerebral Cortex (2011) 22: 2285-2296.

2.3.3. Papel del ácido oleico en el desarrollo postnatal del cerebro

Como se ha mencionado antes, gran parte del desarrollo del Sistema Nervioso Central en el hombre tiene lugar durante la etapa postnatal, cuando se lleva a cabo la “neurogénesis secundaria” y la conformación final del hipotálamo, así como la de otras estructuras cerebrales específicas. De hecho, la neurogénesis postnatal ha suscitado un extraordinario interés desde el punto de vista clínico, pues la inmadurez de la zona subventricular es la responsable de la extraordinaria vulnerabilidad del recién nacido al trauma hipóxico-isquémico. Este hecho es especialmente crítico en el recién nacido prematuro, en el que el distrés respiratorio produce tales cambios en la dinámica vascular que puede causar hemorragias subventriculares de efectos deletéreos permanentes.

Resultados procedentes de nuestro laboratorio han puesto de manifiesto que el ácido oleico controla el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Central en la rata (Tabernero et al. 2001) (Medina y Tabernero, 2002) (Velasco et al. 2003). En efecto, el ácido oleico se sintetiza en los astrocitos (Tabernero et al. 2002), de donde es enviado a las neuronas como mensajero de la acción neurotrófica.

De hecho, el ácido oleico no sólo es utilizado para la construcción de la membrana neuronal sino que actúa como agente neurotrófico, promoviendo el crecimiento de los axones y de las dendritas, la migración neuronal y la formación de las sinapsis. Estos cambios morfológicos se sustentan en la inducción de la síntesis de proteínas específicas del desarrollo neurítico, tales como la MAP2 (“microtubule associated protein-2”), marcadora del desarrollo de las dendritas, y de la GAP43 (“growth associated protein 43”), marcadora del crecimiento axonal

(Tabernero et al. 2001). Asimismo, el ácido oleico promueve la síntesis de señales de migración neuronal, tales como la doblecortina, así como la de proteínas que participan en las sinapsis, tales como la PSD 95 y la sinaptotagmina.

El efecto del ácido oleico es sinérgico con el de las neurotrofinas NT-3 y NT-4/5, aunque no con el del NGF ni del BDNF (Granda et al. 2003), lo que sugiere que durante el periodo perinatal el ácido oleico se comporta como un agente neurotrófico específico. En este sentido, el efecto del ácido oleico es singular de este ácido graso, pues ni siquiera su isómero en trans, el ácido elaídico, es capaz de mimetizar sus efectos (Rodríguez-Rodríguez et al. 2004).

Asimismo, en nuestro laboratorio se ha identificado el mecanismo de transducción de la señal del ácido oleico en neuronas. En este sentido, el PPAR α es el receptor nuclear del ácido oleico, puesto que su silenciamiento mediante RNA de interferencia (siRNA) suprime los efectos neurotróficos del ácido graso (Bento-Abreu et al. 2007). Además, el ácido oleico induce la síntesis del factor de transcripción NeuroD2, que juega un papel esencial en las últimas etapas del desarrollo neuronal (Rodríguez-Rodríguez et al. 2004). Es más, la proteína quinasa C está implicada en el efecto del ácido oleico, puesto que la presencia de inhibidores específicos de la quinasa suprime los efectos neurotróficos del ácido graso (Rodríguez-Rodríguez et al. 2004, Tabernero et al. 2002) (Bento-Abreu et al. 2007).

El ácido oleico se sintetiza en los astrocitos bajo el estímulo de la albúmina sérica (Tabernero et al. 2002). En efecto, la albúmina es reconocida por la megalina (Bento-Abreu et al. 2008), una proteína de la familia de los receptores de las lipoproteínas, siendo posteriormente endocitada por caveolas. Una vez en el interior del astrocito, la albúmina es conducida al retículo endoplasmático, donde activa al SREBP 1, un factor de transcripción que induce la estearil-CoA desaturasa, enzima clave de la síntesis de ácido oleico (Tabernero et al. 2002). En este sentido, el desarrollo postnatal del cerebro coincide con un aumento de la albúmina sérica en todas las especies, lo que se acompaña de la entrada específica de la albúmina en el cerebro durante este periodo (Velasco et al. 2003).

De hecho, inmediatamente tras el nacimiento se observa un aumento significativo de la forma activa del SREBP 1, un factor de transcripción que induce la expresión de diversas enzimas del metabolismo lipídico. Entre ellas, la de la estearil-CoA desaturasa, enzima clave en la síntesis de ácido oleico, ya que cataliza la introducción del doble enlace característica de este ácido graso. El aumento de la expresión de la enzima se acompaña de la inducción de las proteínas marcadoras de crecimiento axonal y dendrítico GAP 43 y MAP 2, respectivamente (Velasco et al. 2003). Estos resultados, realizados *in vivo*, han sido confirmados en cultivos organotípicos. En este sentido, hemos demostrado recientemente que, tanto la albúmina como el ácido oleico, promueven el desarrollo del estriado, donde

inducen el crecimiento y la fasciculación de los axones (Polo-Hernández et al. 2010). La importancia de este hecho viene corroborada por el reciente descubrimiento de que el ratón nulo de megalina, es decir, del transportador específico de albúmina, presenta holoprosencefalia (Kantarci et al. 2007), lo que señala a la albúmina y al ácido oleico como piezas clave en el desarrollo del SNC.

Por último, un grupo de investigadores del Hospital de Paraplégicos de Toledo ha descubierto que el tratamiento intratecal con el complejo albúmina-ácido oleico consigue reparar la lesión de médula espinal causada experimentalmente en animales (Ávila-Martín et al. 2011).

En resumen, todo parece indicar que la albúmina regula el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Central a través del aumento del ácido oleico, el cual actúa como factor neurotrófico del desarrollo neuronal. Por consiguiente, el aumento de las concentraciones de albúmina que tiene lugar inmediatamente tras el nacimiento es la señal para el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Central. Para ello, la albúmina promueve la síntesis de ácido oleico en los astrocitos, el cual difunde hacia las neuronas, en las que promueve el crecimiento dendrítico y axonal, así como la migración de las neuronas y la formación de sinapsis.

3. CONCLUSIÓN

En la especie humana el desarrollo del Sistema Nervioso continúa tras el nacimiento, un hecho que, al contrario de lo esperado, resulta en un perfeccionamiento de las estructuras cerebrales, posiblemente responsable del surgimiento de la inteligencia en la especie humana. Este hecho explica la vulnerabilidad del cerebro humano durante la etapa perinatal y señala a este periodo como de especial atención en el manejo del recién nacido.

4. REFERENCIAS

1. Arsuaga, J. L. and Martínez, I. (1998) *La especie elegida*. Ediciones Temas de Hoy, S.A., Madrid.
2. Ávila-Martín, G., Galán-Arriero, I., Gómez-Soriano, J. and Taylor, J. (2011) Treatment of rat spinal cord injury with the neurotrophic factor albumin-oleic acid: translational application for paralysis, spasticity and pain. *PLoS One*, 6, e26107.
3. Bento-Abreu, A., Taberner, A. and Medina, J. M. (2007) Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha is required for the neurotrophic effect of oleic acid in neurons. *J Neurochem*, 103, 871-881.
4. Bento-Abreu, A., Velasco, A., Polo, E., Reyes, P. L., Taberner, A. and Medina, J. M. (2008) Megalin is a receptor for albumin in astrocytes and is required for the synthesis of the neurotrophic factor oleic acid. *J Neurochem*.
5. Bond, J., Roberts, E., Mochida, G. H., Hampshire, D. J., Scott, S., Askham, J. M., Springell, K., Mahadevan, M., Crow, Y. J., Markham, A. F., Walsh, C. A. and Woods, C. G. (2002) ASPM is a major determinant of cerebral cortical size. *Nat Genet*, 32, 316-320.
6. Curtis, M. A., Kam, M., Nannmark, U., Anderson, M. F., Axell, M. Z., Wikkelso, C., Holtås, S., van Roon-Mom, W. M., Björk-Eriksson, T., Nordborg, C., Frisén, J., Dragunow, M., Faull, R. L.

- and Eriksson, P. S. (2007) Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science*, 315, 1243-1249.
7. Elul, R., Hanley, J. and Simmons, J. I. (1975) Non-Gaussian behavior of the EEG in Down's syndrome suggests decreased neuronal connections. *Acta Neurol. Scand.*, 51, 21-28.
 8. Evans, P. D., Anderson, J. R., Vallender, E. J., Choi, S. S. and Lahn, B. T. (2004) Reconstructing the evolutionary history of microcephalin, a gene controlling human brain size. *Hum Mol Genet*, 13, 1139-1145.
 9. Evans, P. D., Gilbert, S. L., Mekel-Bobrov, N., Vallender, E. J., Anderson, J. R., Vaez-Azizi, L. M., Tishkoff, S. A., Hudson, R. R. and Lahn, B. T. (2005) Microcephalin, a gene regulating brain size, continues to evolve adaptively in humans. *Science*, 309, 1717-1720.
 10. Francis, F., Koulakoff, A., Boucher, D., Chafey, P., Schaar, B., Vinet, M. C., Friocourt, G., McDonnell, N., Reiner, O., Kahn, A., McConnell, S. K., Berwald-Netter, Y., Denoulet, P. and Chelly, J. (1999) Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron*, 23, 247-256.
 11. Gilbert, S. L., Dobyns, W. B. and Lahn, B. T. (2005) Genetic links between brain development and brain evolution. *Nat Rev Genet*, 6, 581-590
 12. Gould, S. J. (1977) *Ever Since Darwin: Reflections in Natural History*. Penguin, London.
 13. Granda, B., Tabernero, A., Tello, V. and Medina, J. M. (2003) Oleic acid induces GAP-43 expression through a protein kinase C-mediated mechanism that is independent of NGF but synergistic with NT-3 and NT-4/5. *Brain Res*, 988, 1-8.
 14. Johnson, M. H. (2001) Functional brain development in humans. *Nature Rev. Neurosci.*, 2, 475-483.
 15. Kantarci, S., Al-Gazali, L., Hill, R. S., Donnai, D., Black, G. C. M., Bieth, E., Chassaing, N., Lacombe, D., Devriendt, K., Teebi, A., Loscertales, M., Robson, C., Liu, T., MacLaughlin, D.T., Noonan, K. M., Russell, M. K., Walsh, C. A., Donahoe, P. K. and Pober, B. R. (2007) Mutations in LRP2, which encodes the multiligand receptor megalin, cause Donnai-Barrow and facio-oculo-acoustico-renal syndromes. *Nat Genet*, 39, 957-959.
 16. Kostovic, I., Lukinovic, N., Judas, M., Bogdanovic, N., Mrzljak, L., Zecevic, N. and Kubat, M. (1989) Structural basis of the developmental plasticity in the human cerebral cortex: The role of the transient subplate zone. *Metabol. Brain Disease*, 4, 17-23.
 17. Le Magueresse, C., Alfonso, J., Bark, C., Eliava, M., Khrulev, S. and Monyer, H. (2012) Subventricular zone-derived neuroblasts use vasculature as a scaffold to migrate radially to the cortex in neonatal mice. *Cereb Cortex*, 22, 2285-2296.
 18. Martoncikova, M., Racekova, E. and Orendacova, J. (2006) The number of proliferating cells in the rostral migratory stream of rat during the first postnatal month. *Cell Mol Neurobiol*, 26, 1453-1461.
 19. Medina, J. M. (2002) Origen neoténico de la mente. Gráficas Cervantes S.A., Salamanca.
 20. Medina, J. M. and Tabernero, A. (2002) Astrocyte-synthesized oleic acid behaves as a neurotrophic factor for neurons. *J Physiol Paris*, 96, 265-271.
 21. Mekel-Bobrov, N., Gilbert, S. L., Evans, P. D., Vallender, E. J., Anderson, J. R., Hudson, R. R., Tishkoff, S. A. and Lahn, B. T. (2005) Ongoing adaptive evolution of ASPM, a brain size determinant in *Homo sapiens*. *Science*, 309, 1720-1722.
 22. Merkle, F. T., Tramontin, A. D., García-Verdugo, J. M. and Álvarez-Buylla, A. (2004) Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 17528-17532.
 23. Meyer, G., Goffinet, A. M. and Fairen, A. (1999) What is a Cajal-Retzius cell? A reassessment of a classical cell type based on recent observations in the developing neocortex. *Cereb Cortex*, 9, 765-775.
 24. Milner, R. (1995) *Diccionario de la evolución*. Bibliograf S.A., Barcelona.
 25. Morgan, S. (1979) Development and distribution of intellectual and adaptive skills in Down syndrome children: Implications for early intervention. *Ment Retard.*, 17, 247-249.
 26. Polo-Hernández, E., De Castro, F., García-García, A. G., Tabernero, A. and Medina, J. M. (2010) Oleic acid synthesized in the periventricular zone promotes axonogenesis in the striatum during brain development. *J Neurochem*, 114, 1756-1766.
 27. Quiñones-Hinojosa, A., Sanai, N., Soriano-Navarro, M., González-Pérez, O., Mirzadeh, Z., Gil-Perotin, S., Romero-Rodriguez, R., Berger, M. S., García-Verdugo, J. M. and Álvarez-Buylla, A. (2006) Cellular composition and cytoarchitecture of the adult human subventricular zone: a niche of neural stem cells. *J Comp Neurol*, 494, 415-434.

28. Rodríguez-Rodríguez, R. A., Tabernero, A., Velasco, A., Lavado, E. M. and Medina, J. M. (2004) The neurotrophic effect of oleic acid includes dendritic differentiation and the expression of the neuronal basic helix-loop-helix transcription factor NeuroD2. *J Neurochem*, 88, 1041-1051.
29. Sawamoto, K., Wichterle, H., González-Pérez, O., Cholfin, J. A., Yamada, M., Spassky, N., Murcia, N. S., García-Verdugo, J. M., Marín, O., Rubenstein, J. L., Tessier-Lavigne, M., Okano, H. and Álvarez-Buylla, A. (2006) New neurons follow the flow of cerebrospinal fluid in the adult brain. *Science*, 311, 629-632.
30. Shah, S. N. (1979) Fatty acid composition of lipids of human brain myelin and synaptosomes: changes in phenylketonuria and Down's syndrome. *Int J Biochem*, 10, 477-482.
31. Spassky, N., Merkle, F. T., Flames, N., Tramontin, A. D., García-Verdugo, J. M. and Álvarez-Buylla, A. (2005) Adult ependymal cells are postmitotic and are derived from radial glial cells during embryogenesis. *J Neurosci*, 25, 10-18.
32. Squire, L. R., Bloom, F. E., McConnell, S. K., Roberts, J. L., Spitzer, N. C. and Zigmond, M. J. (2003) *Fundamental Neuroscience*. Academic Press, London.
33. Tabernero, A., Lavado, E. M., Granda, B., Velasco, A. and Medina, J. M. (2001) Neuronal differentiation is triggered by oleic acid synthesized and released by astrocytes. *J Neurochem*, 79, 606-616.
34. Tabernero, A., Velasco, A., Granda, B., Lavado, E. M. and Medina, J. M. (2002) Transcytosis of albumin in astrocytes activates the sterol regulatory element-binding protein-1, which promotes the synthesis of the neurotrophic factor oleic acid. *J Biol Chem*, 277, 4240-4246.
35. Tramontin, A. D., García-Verdugo, J. M., Lim, D. A. and Álvarez-Buylla, A. (2003) Postnatal development of radial glia and the ventricular zone (VZ): a continuum of the neural stem cell compartment. *Cereb Cortex*, 13, 580-587.
36. Velasco, A., Tabernero, A. and Medina, J. M. (2003) Role of oleic acid as a neurotrophic factor is supported in vivo by the expression of GAP-43 subsequent to the activation of SREBP-1 and the up-regulation of stearyl-CoA desaturase during postnatal development of the brain. *Brain Res*, 977, 103-111.

El concepto de allostasis en la Biomedicina actual

Ana María Pascual-Leone Pascual

Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.
e-mail: edicion@ranf.com

Recibido el 13 de abril de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 1 (2013), pag. 69-89

FISIOLOGIA Y CONTROL CEREBRAL DEL COMPORTAMIENTO. Mesa Redonda celebrada en la Real Academia Nacional de Farmacia el día 29 de noviembre del 2012 Coordinadora: A. M. Pascual-Leone.

RESUMEN

Los comportamientos que realizan los mamíferos en momentos de peligro son adaptaciones muy importantes para su supervivencia. Fueron denunciados por Hans Selye en 1936 quien lo llamó “síndrome general de adaptación”. El acuñó el vocablo estrés que ha sido adoptado en todos los idiomas. Ello estimuló una cantidad enorme de investigación que nos han llevado en los años 2000 al replanteamiento de muchas cuestiones y al establecimiento del concepto de allostasis –mantenimiento de la estabilidad a través del cambio- y también de carga y sobrecarga allostática. Estos procesos se realizan bajo estricto control cerebral. Sus conclusiones nos están llevando a la revisión de muchas cuestiones e incluso a una nueva concepción de la salud y la enfermedad.

Palabras clave: Allostasis; axis HPA; glucocorticoides; control cerebral.

ABSTRACT

Allostasis's concept in the current Biomedicine

Mammal behaviour in response to danger is a critical adaptation for surviving. This idea was first enunciated by Hans Selye in 1936 who named the process: “general adaptation syndrome”. Selye himself coined the word stress, which was included in all languages. From that moment to the present century, the huge amount of research on the subject has changed our view of the process and has guided to the current concept of allostasis – maintaining stability through change – and also to allostatic load and overload. All these processes are brain regulated. The conclusions from that research are leading to the reconsideration of many notions and to a new concept of health and disease.

Keywords: Allostasis; HPA axis; glucocorticoids; brain regulation.

1. INTRODUCCIÓN

En el desarrollo del cerebro se tiene que establecer la estructura neuronal necesaria para poder integrar factores ambientales externos, siempre cambiantes, con las respuestas fisiológicas necesarias para mantener la homeostasis orgánica (1).

En una situación de emergencia, de peligro para el organismo, bien por desequilibrios internos; por variaciones de pH, temperatura, hambre, sed etc. bien por factores ambientales: un terremoto, una tempestad o un depredador que viene a agredirnos, el organismo tiene que habilitar respuestas fisiológicas y de conducta, a través del cerebro, con fines de supervivencia (2,3).

2. INVESTIGACIONES EN EL SIGLO XX

La primera vez que se habló de dichas respuestas se debe a Hans Selye, en 1936 (4,5), estableció que se producía lo que él denominó *un síndrome general de adaptación* cuyo principal acontecimiento era la salida masiva de niveles altos de glucocorticoides a plasma. También dijo que se producía una disminución del timo, una hipertrofia de corteza suprarrenal, y algunas veces úlcera gástrica. Todo ello estimuló en el siglo XX, enormemente, las investigaciones básicas en dicha vertiente.

En 1968 (6), se descubrieron, por primera vez, los receptores nucleares de glucocorticoides en el cerebro. Se encontraron en zonas pertenecientes al sistema límbico: hipocampo, septum o amígdala. El sistema límbico, que fue llamado “cerebro visceral”, controla las emociones, como ustedes saben. Y con las mismas técnicas utilizadas para los receptores de glucocorticoides se descubrieron los receptores de las hormonas gonadales en hipotálamo y en pituitaria o hipófisis.

Pronto se estableció que los corticoides modificaban, en determinadas circunstancias, estructuras límbicas, con la consiguiente consecuencia en las tareas encomendadas a dichas zonas cerebrales. Como, por ejemplo, alteración de procesos de conocimiento con un componente espacial y almacenamiento en su memoria, en el caso de tratarse del hipocampo, ya que esta zona cerebral está encargada de dichas funciones (7,8).

También se descubrió que efectivamente ante un estado de estrés se activaba el axis hipotálamo- pituitaria –adrenal (axis HPA). Axis que funciona como muchos axis endocrinos con secreción en hipotálamo de hormonas hipotalámicas. En este caso la arginina –vasopresina (AVP) y la corticotrofina hipotalámica CRH, la cual, por el sistema porta, llega a la hipófisis y estimula, a su vez, la secreción de la gran molécula proopiomelanocortina (POMC), que por proteólisis dará lugar a la secreción hipofisaria corticotropina o ACTH. En este axis la corticotrofina hipofisaria (ACTH) activará en la corteza suprarrenal la secreción de los

glucocorticoides que, como ya enunció Selye, secretaran niveles altos de glucocorticoides a plasma (Figura 1).

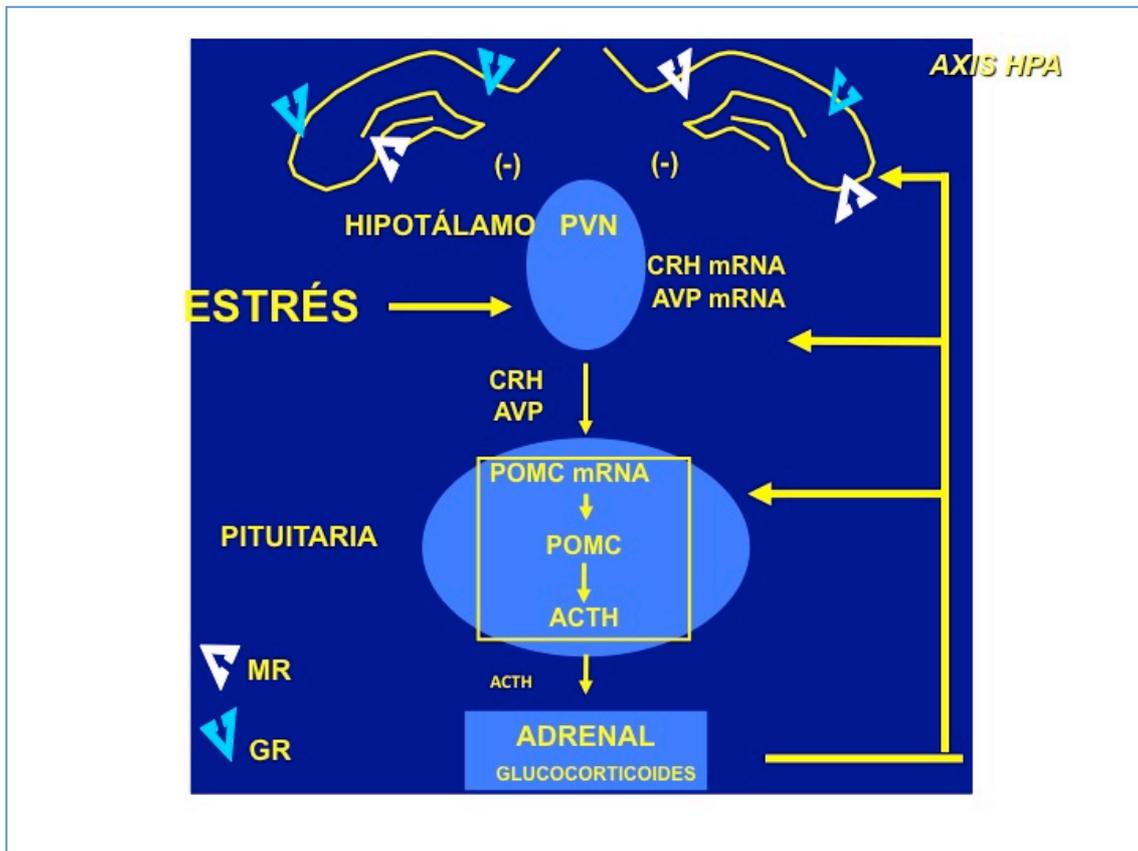


Figura 1.- El axis hipotálamo-pituitaria- adrenal (HPA) se regula por las secreciones de la correspondiente hormona hipotalámica corticotropa (CRH) secretada en el núcleo paraventricular junto con la arginina- vasopresina (AVP) que estimulan en pituitaria la secreción de la hormona corticotropa ACTH derivada de la proopiomelanocortina (POMC). El ACTH estimula la secreción de corticoides en la corteza suprarrenal. En la regulación de este axis es muy importante la retroalimentación negativa ejercida en hipocampo a través de los receptores específicos de mineralo y glucocorticoides MR y GR. Una situación de emergencia o estrés, dispara el axis Ver texto. Modificada de figura 2 cita (2).

En todos los axis endocrinos, también las hormonas periféricas desde el plasma ejercen una retroalimentación negativa a nivel de pituitaria y a nivel de hipotálamo, que permite, finalmente, bloquearlos y, por tanto, evitar la salida de las correspondientes hormonas a sangre. Ello es importante en todos los axis para evitar que las hormonas de las glándulas periféricas permanezcan en plasma un tiempo innecesario, pero en el axis HPA es muy importante porque, también en el siglo XX, se estableció que los receptores nucleares de los glucocorticoides están muy extendidos en el organismo (2), y no solamente en zonas cerebrales, sino en órganos importantes como el hígado, el páncreas o el sistema esquelético.

Debido a ello, la larga permanencia en plasma de glucocorticoides produciría efectos devastadores sobre los organismos. Quizá por dicho peligro, en

el axis HPA, existe una acción tónica sobre la retroalimentación negativa ejercida por los muchos receptores nucleares de glucocorticoides que existen en el hipocampo. Y cuando son muy numerosos, la retroalimentación negativa se ejerce muy bien a nivel de hipotálamo y pituitaria o hipófisis y, entonces, el axis se bloqueará en el momento adecuado, con el consiguiente cese de salida a plasma de glucocorticoides. Pero si son escasos los receptores hipocampales, la retroalimentación negativa se produce mal, y tendremos un axis que, en estado de estrés, mantiene innecesariamente sus glucocorticoides circulantes. Además, será un axis excesivamente sensible y mal regulado. Pero es que, además, la programación del axis HPA puede estar sometida a programación epigenética en periodo perinatal

3. PROGRAMACIÓN EPIGENÉTICA PERINATAL SOBRE EL AXIS HPA POR GLUCOCORTICOIDES (GC)

Pronto se comenzó a ver que cuando se incrementaba la reactividad emocional y el miedo a situaciones nuevas en ratas jóvenes, cualquiera que fuera la causa, tenía graves consecuencias en su longevidad y en su función cognitiva en periodo adulto; éstos y otros muchos experimentos en animales llevaron a la conclusión, ya en el siglo XXI, de que los niveles altos de los glucocorticoides circulantes debidos a un axis HPA mal regulado eran causados, muchas veces, por una programación perinatal anómala de dicho axis (9).

Por otra parte, más recientemente, se ha podido establecer (2) que la programación del axis corticosuprarrenal (HPA), producida durante el desarrollo, cuando es anómala, parece estar subyacente, y ser un denominador común en las patologías adultas del síndrome metabólico adulto, diabetes 2, dislipemias o alteraciones cardiovasculares. Concordante con esto, abusos en la infancia en niños, y malos tratos son un factor de riesgo para depresiones, desordenes postraumáticos, conductas antisociales, además de obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares en periodo adulto (3,10).

El grupo de Maccari S. lleva unos veinte años estudiando en animales (10) las consecuencias a largo plazo de restricciones prenatales y postnatales producidas por estrés (PRS) (perinatal restraint stress) sobre la regulación y actividad del axis HPA y sobre las alteraciones del ritmo circadiano de los corticoides.

En modelos animales se ha encontrado que el estrés crónico perinatal (PRS) provoca, en machos, además de una respuesta desmesurada al estrés en periodo adulto, un anormal ciclo circadiano de corticoides y disfunciones del sueño, sin embargo, las hembras sometidas a PRS parecen mejor protegidas en cuanto a ansiedad y a perturbaciones de memoria .

El hecho de que el estrés materno pueda producir alteraciones graves en la programación del eje HPA en los fetos, ha sido estudiado muy extensamente en animales y hoy está totalmente conocida la gran importancia del aumento de los glucocorticoides maternos que pasan al feto, puesto que se han hecho experimentos con animales adrenalectomizados. Pero, además, se ha visto que el estrés crónico y persistente (PRS) materno provoca la disminución de la actividad placentar 11- beta-hidroxiesteroide-deshidrogenada tipo 2 (11 β -HSD 2), que es una barrera enzimática placentaria para proteger al feto de los glucocorticoides maternos, puesto que inactiva los glucocorticoides activos y los transforma en inertes, y, por tanto, incapaces de unirse a sus receptores específicos y actuar. Todo ello está diciendo que el estrés materno deja al feto indefenso frente a los glucocorticoides maternos que además de estar muy altos, en caso de estrés materno, no van a ser inactivados por la barrera enzimática placentaria de una forma normal (3) (Figura 2).

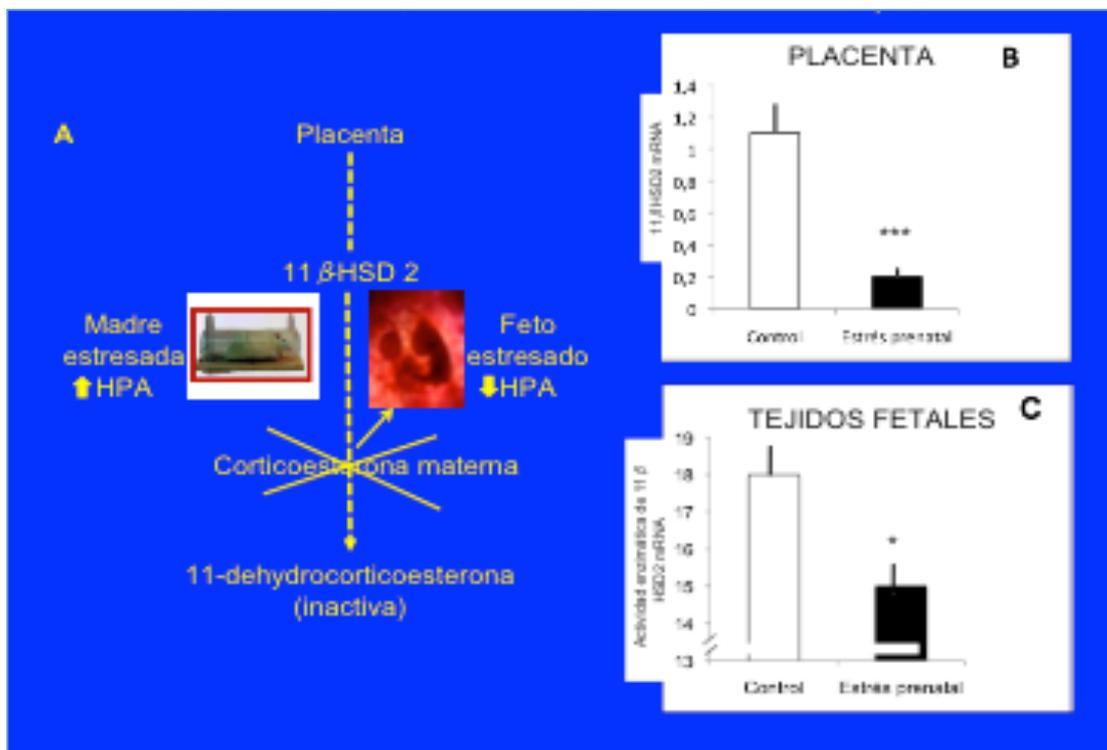


Figura 2.- El estrés materno disminuye la actividad 11beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa tipo 2(11 β HSD 2) en placenta que transforma los corticoides activos en inertes, por tanto expone al feto a la llegada de corticoides activos de su madre que programaran mal el eje HPA fetal de forma irreversible. También la disminuye en los tejidos fetales (ver derecha de la figura). Gráfica modificada desde cita (20).

Lo que realmente se produce, en caso de estrés materno, es una disminución de la expresión de los receptores de glucocorticoides (GR) en hipocampo fetal, lo cual produce una mala regulación del eje HPA, que perdura en estado adulto. Los mecanismos moleculares a nivel genético que provocan la

disminución de la expresión de los receptores GC también han sido estudiados (11,12) (Fig 3)

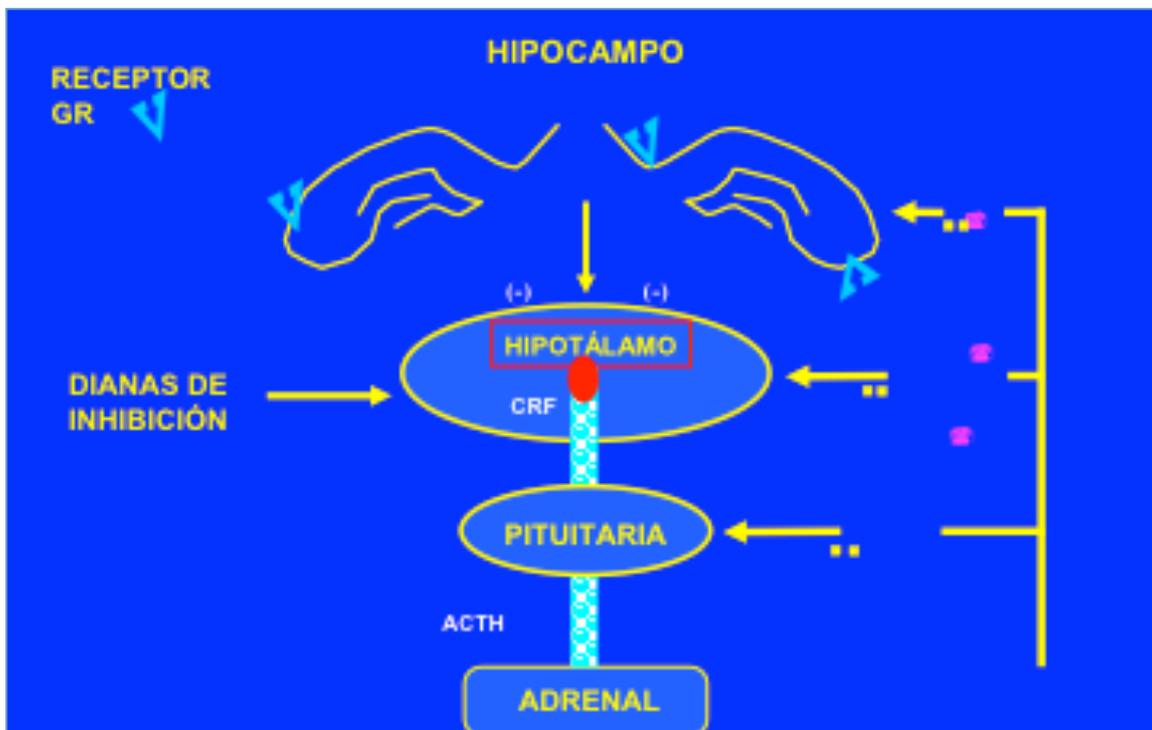


Figura 3.- Axis HPA donde se sitúan escasamente en hipocampo los receptores de glucocorticoides lo cual proporciona una mala retroalimentación negativa a nivel de pituitaria o hipófisis e hipotalamo.

Todas estas investigaciones realizadas en el siglo XX, y muchas otras, en dicha vertiente, se hicieron bajo un paradigma que comprendía tres premisas aceptadas, entonces, por todo el mundo científico.

La primera, que las hormonas gonadales o sexuales ejercían su acción, a través del cerebro, siempre con fines reproductores.

En segundo lugar, se pensaba que los receptores de hormonas esteroides eran nucleares y hacían su acción por vía genética, es decir, fijándose al ADN y modulando la expresión de proteínas, y, en tercer lugar, se creía en la plasticidad del cerebro en periodos de desarrollo, pero se tenían muchos prejuicios acerca de la plasticidad del cerebro adulto.

Las tres premisas se vinieron abajo a finales del siglo XX. Todo ello provocado, fundamentalmente, por el hecho de que los estudios a nivel cerebral del estradiol mostraban que, además de producir un dimorfismo sexual cerebral a través de receptores nucleares en hipotálamo, el estradiol influenciaba, a través del cerebro: fluidez verbal, tareas de conocimiento espacial, de memoria y motoras; coordina movimientos, y su acción está implicada en las depresiones. Y para explicar estas acciones se buscaron los correspondientes receptores

nucleares de estradiol en las zonas cerebrales encargadas de dichas funciones, es decir: lóbulo olfatorio, amígdala, hipocampo, corteza cerebral, locus coeruleus, raphe dorsal, cerebelo etc. (13). Pero nunca se encontraron. Y ello hizo, ya a finales del siglo XX, profundizar en el estudio de los receptores de esteroides tanto gonadales como corticosuprarrenales.

Estos estudios llevaron al descubrimiento de la existencia de los receptores de esteroides, con igual estructura que los nucleares, pero situados en membranas celulares. Y estos receptores de membrana actuaban de forma más rápida por vía no genética, modificando corrientes de calcio, produciendo señales eléctricas postsinápticas o modulando señales intracelulares a través de proteínas G, AMP cíclico o Map-quinasas.

Por ello, muy a finales del siglo XX, y en todo lo que llevamos del XXI, las investigaciones de muchos grupos, comenzando por los dos que dirige B. S. McEwen en New York (Rockefeller University and Weill Cornell Medical College), se dedicaron a buscar los receptores membranales de esteroides, en cerebro, tanto gonadales como de glucocorticoides. Los grupos de McEwen habían sido, además, los que descubrieron en 1968, por primera vez, en cerebro, receptores nucleares de glucocorticoides (6).

Existen, ya en el siglo XXI y también a finales del XX (13,14), muchos trabajos al respecto de dicho grupo (15,16) y de muchos otros investigadores (17), pero quizá uno de los más representativos, corresponde a dicho grupo de McEwen, publicado en 2007 (16), en el que hacen una recopilación de sus resultados. En él describen cómo utilizando técnicas nuevas de inmunocitoquímica y no microscopio de luz sino electromicroscopio, estudian la distribución celular y subcelular de los receptores de membrana de estradiol, progesterona y andrógenos, y los encuentran en la zona CA1 del hipocampo y en cantidades similares para las tres hormonas, aunque distribuidos, topográficamente, en zonas distintas (Figura 4). El trabajo, además, está hecho en cerebro de rata adulta y en él se hace un respetuoso homenaje a nuestro eminente Premio Nobel Ramón y Cajal, citando sus propias palabras.

Y todo ello comporta una nueva visión acerca de la diversidad de acciones de las hormonas esteroides a nivel cerebral y de la plasticidad cerebral en cualquier etapa vital. Mc Ewen afirma que esta nueva visión es consistente con las predicciones de Cajal en su libro “ La estructura del cuerno de Amon “, tal como se llamó primeramente al hipocampo. Dicho libro fue publicado por D. Santiago Ramón y Cajal en 1892, a quien, muy respetuosamente, llama Mc Ewen “ese visionario neuroanatomista que predijo muchos aspectos de la estructura cerebral y plasticidad que nosotros y otros estamos encontrando hoy”

Todo ello, junto con muchos otros resultados de otros investigadores, muestra, pues, por una parte, que las hormonas gonadales no actúan a través del cerebro solamente con fines reproductores, ya que el hipocampo nada tiene que ver en ello y, por otra parte, es una muestra de la plasticidad del cerebro adulto, ya que los receptores encontrados la denuncian, y, por último, desde luego está completamente establecido hoy, que los receptores de esteroides no son solamente nucleares. Así que estamos trabajando en estas cuestiones, actualmente, durante el siglo XXI, bajo un cambio de paradigma.

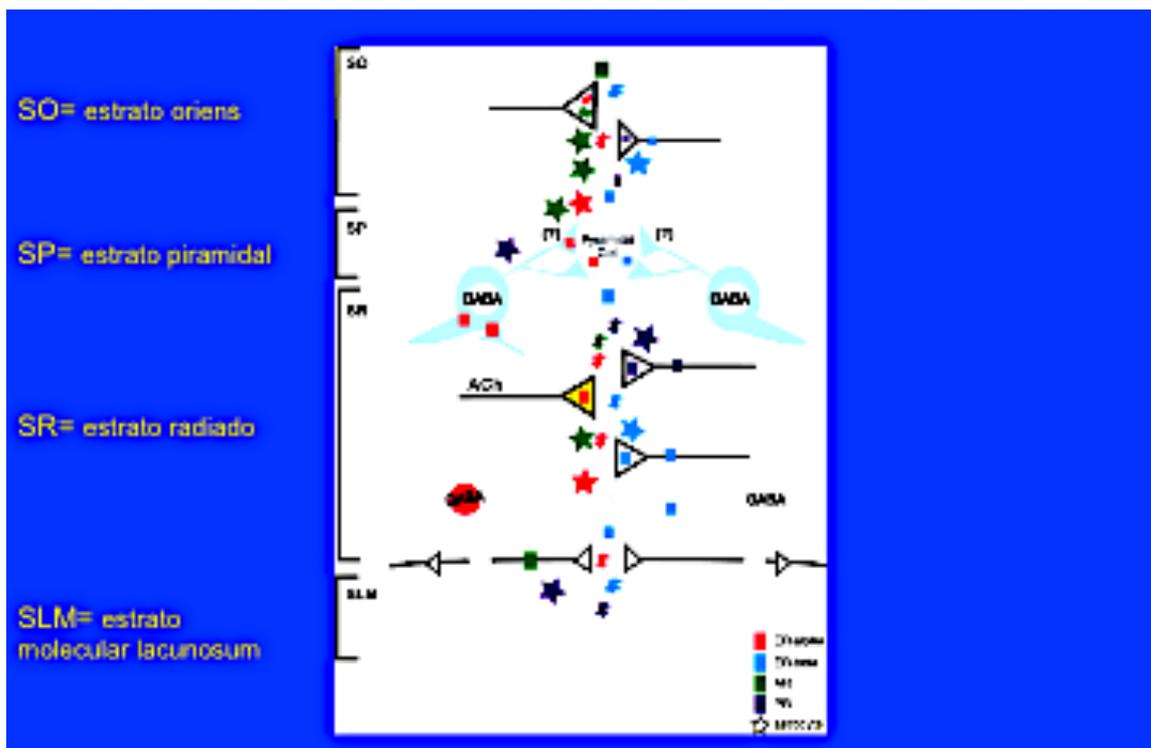


Figura 4.- Distribución de receptores gonadales de membrana en la zona CA1 del hipocampo de rata adulta. Modificada de BS Mc Ewen et al. cita (16).

También fue el grupo de McEwen el que encontró que, en rata hembra, en la zona CA1 del hipocampo existen muchas más dendritas en el momento del proestro, cuando los niveles de estradiol son más altos en la circulación, que en la etapa del estro en la cual decae el estradiol (Figura 5), mostrando la gran acción moduladora de la hormona gonadal en las estructuras hipocampales.

Todo el cúmulo de conocimientos acumulados en el siglo XX, hicieron pensar además, a los investigadores de esta temática en el nuevo siglo, que dichos nuevos hallazgos no se englobaban bien dentro del concepto de estrés establecido por Selye en 1936. Pensaron que el estrés es un concepto excesivamente abstracto y difuso, por otra parte, había sido un poco mal utilizado en algunas ocasiones. Como cuando se había hablado del estrés de la reproducción o del estrés de la emigración de las aves, los cuales son procesos absolutamente fisiológicos.

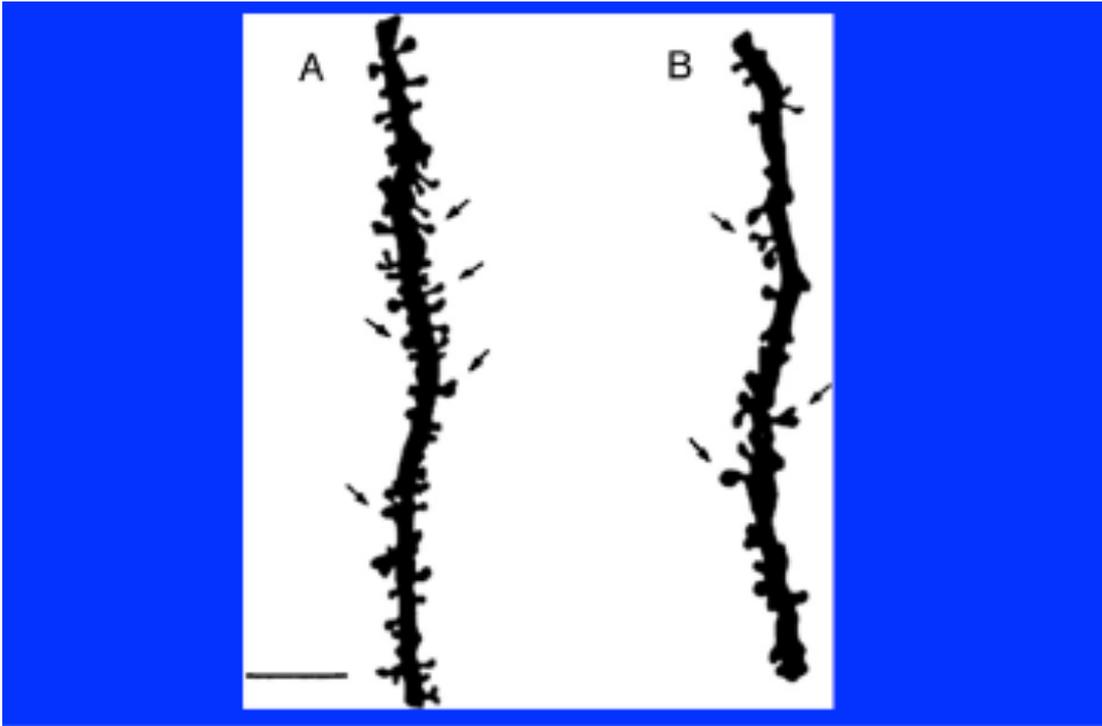


Figura 5.- A: abundancia de dendritas en estado de proestro en ratas hembras y B: dendritas escasas en estado de estro. Grafica modificada de cita (16).

Por todo ello, recientemente, ya en el siglo XXI se ha acuñado el termino allostasis.

4. ALLOSTASIS

El término *Allostasis* se había enunciado ya por Sterling, en 1988 (18), tratando de referirse a las respuestas y adaptaciones orgánicas que se producen por el consumo de drogas. Etimológicamente significa; “establecimiento del equilibrio a través del cambio”.

La allostasis es un proceso dinámico, muy activo que se realiza todo él a través del cerebro, ya que, actualmente, está absolutamente establecido que las hormonas del estrés tienen como diana el cerebro.

Resumidamente se puede decir (Figura 6) que todo comienza con la llegada al cerebro de un estímulo estresante, que puede ser un desequilibrio interno: hambre, variaciones de pH, sed, temperatura, etc. o externo: cambios climáticos por una tormenta, un tsunami, un terremoto o un depredador que viene a agredirnos. Por la plasticidad cerebral, que hoy sabemos que existe tanto en periodos inmaduros como en periodos adultos, el cerebro pone en marcha procesos allostáticos. Estos procesos se realizan en dos vertientes; por una parte, el cerebro hace un reconocimiento cognitivo de la situación de emergencia. Aprecia si es más o menos peligrosa la emergencia, qué tipo de peligro etc. y según

esto habilitará respuestas fisiológicas que también se harán en dos vertientes; respuestas neuroendocrinas, con activación del sistema simpático-adreno-medular y, respuestas de conducta. Es decir, el cerebro, por una parte, actúa a través del sistema nervioso autónomo activando el simpático, y, por otra parte, activa el axis HPA provocando, como ya había enunciado Selye, salida masiva de glucocorticoides a plasma. Pero, además, prepara conductas adecuadas para enfrentarse a la situación de emergencia.



Figura 6.- Allostasis es conceptualmente el conjunto de procesos que tienden a restaurar el equilibrio orgánico después de un estado de estrés y se establece en torno a tres cuestiones: un estímulo estresante, una evaluación cognitiva de lo que sucede y una respuesta fisiológica. Todo ello teniendo como papel central la plasticidad cerebral en primer lugar actuando a través de procesos allostáticos que a su vez modulan la plasticidad del cerebro y que elaboran respuestas biológicas en dos vertientes neuroendocrinas (activación del sistema simpático adreno-medular) y respuestas de conducta (estrategias para afrontar la situación), ambas tienden a restablecer el equilibrio orgánico. Finalmente, se consigue bien éxito o fracaso y cuando más cerca estemos de esto último más vulnerabilidad para el organismo. La capacidad de allostasis de cada organismo está programada genéticamente y/o por factores epigenéticos perinatales. Figura reproducida desde cita (2) con permiso.

Las conductas habilitadas por el cerebro ante una situación de emergencia en el reino animal, han sido condensadas y denominadas, en el año 2000 (19), por algunos investigadores con la frase “lucha o vuela” en el caso de animales macho y “vigila y hazte amigo” en el caso de animal hembra. Frases que también servirían

para los humanos ... nosotros no volamos, pero ante una situación de emergencia también lucharíamos o trataríamos la situación con vigilancia o cautela.

Los procesos allostáticos pueden realizarse con un éxito total, si un organismo tiene establecido de forma adecuada el funcionamiento de su axis hipotálamo- pituitaria-adrenal o HPA (siguiendo la nomenclatura anglosajona usada en el mundo científico). Y en caso de éxito, habrá una magnífica adaptación a la situación de emergencia y, por tanto, ningún daño secundario para el organismo.

Pero podría producirse un fracaso en dichos procesos; fundamentalmente, por mala programación del axis HPA. En cuyo caso aparecerán úlceras gástricas, denunciadas ya por Selye, o patologías de tipo ansiedad o depresiones. La pregunta que surge es: ¿porqué patologías psiquiátricas?. Pues, porque cuando los procesos allostáticos no se realizan correctamente y se convierten en crónicos, entonces los glucocorticoides en plasma se mantienen demasiado tiempo altos y hemos señalado los muchos receptores nucleares de glucocorticoides que existen en cerebro en el sistema límbico, los cuales pueden alterar estructuras cuya consecuencia sea la producción de alteraciones emocionales.

Habrá más o menos posibilidad de vulnerabilidad para el organismo, según que estos procesos sean un completo éxito, un poco de fracaso o un total fracaso. ¿Y de qué dependen esas variaciones individuales?. Pues dependen del programa genético heredado por el individuo; dependen de que tengan unos determinados genes que expresaran proteínas determinantes para la buena programación de su axis HPA y, por tanto, funcione correctamente el axis, pero, además, dicha programación podrá haber sido regulada o no por factores epigenéticos perinatales, en el periodo perinatal de desarrollo, como ya hemos expuesto.

5. PRINCIPALES SISTEMAS ORGÁNICOS MOVILIZADOS Y ALTERADOS POR EL CEREBRO EN LA ALLOSTASIS

En la allostasis se movilizan los siguientes sistemas :

1. El metabolismo o balance energético.
2. Aumenta el estrés oxidativo .
3. Se deprime el sistema inmune.
4. Se alteran procesos cognitivos o emocionales por la remodelación de estructuras hipocampales en colaboración con la amígdala.
5. Alteraciones del sueño.

Por ello, la allostasis es un proceso multidimensional y muy dinámico absolutamente orquestado a nivel cerebral (20, 21).

El metabolismo energético ocupa, sin duda, un lugar central en la allostasis porque los procesos allostáticos van a reclamar al organismo una energía extra,

que puede producir un desequilibrio energético. Ya que por la acción catabólica de los glucocorticoides producirá una degradación de las reservas de triglicéridos, glucógeno y proteínas hacia ácidos grasos, glucosa y aminoácidos respectivamente. Lo cual, sin duda, es necesario para proporcionar dicha energía extra y mantener el equilibrio energético. Y para ello, existen receptores cerebrales de hormonas como la leptina, insulina, grelina e IGF I, que son hormonas absolutamente implicadas en el control cerebral del equilibrio energético en situación normal. Se produce, también, en la allostasis, un aumento del estrés oxidativo y una depresión del sistema inmune, que ya fue señalado por Selye.

Se alteran procesos cognitivos o emocionales regidos por estructuras límbicas, en las cuales hay abundantes receptores cerebrales de glucocorticoides y cuando los procesos allostáticos no se realizan bien, siempre se producen alteraciones del sueño. Cuyas consecuencias vendrían a sumarse a las posibles patologías secundarias que una mala adaptación allostática puede producir. Porque lo que ocurre en un proceso allostático mal realizado, es que los glucocorticoides y todos los mediadores de la allostásis, paralelamente a la depresión del sistema inmune, se mantienen en plasma de forma crónica, y ello puede producir efectos devastadores por el estado de gran vulnerabilidad que se establece en el organismo.

6. CONCEPTOS ACTUALMENTE ENUNCIADOS Y DERIVADOS DEL CONCEPTO DE ALLOSTASIS ESTABLECIDO

- A) Homeostasis
- B) Estado o proceso allostático
- C) Coste o carga allostática
- D) Sobrecoste o Sobrecarga allostática Tipo I o Tipo II

En la nueva concepción de los procesos allostáticos (21), el concepto de estrés queda subsumido para designar solamente los factores ambientales que provocan el estado de emergencia y la situación misma de peligro.

La homeostasis, actualmente, se ha restringido a nominar los equilibrios orgánicos de parámetros o variables que son absolutamente indispensables para la supervivencia de los organismos, como son las variaciones de pH, niveles de glucosa o presión de oxígeno, la temperatura, etc.

Estado o proceso allostático es el proceso que acabo de describir a través del cerebro, pero ¿cómo lo hace el cerebro, a través de qué? Pues de mediadores allostáticos entre los cuales los niveles altos en plasma de glucocorticoides ocupan un lugar central. Pero, además, existen muchos más mediadores. Como las citoquinas pro o anti inflamatorias que están secretadas en muchos tejidos del

organismos y además los neurotransmisores catecolaminas, acetilcolinérgicos, serotoninérgicos, gabaérgicos o de glutamato. Todos ellos constituyen redes allostáticas que se regulan de una forma no lineal; ello quiere decir que cuando en un proceso falla un mediador viene otro a sustituirle en el proceso allostático, aunque la regulación depende del tiempo en que se produce la falta y de la cantidad. En esa no linealidad de los procesos allostáticos interviene el sistema parasimpático oponiéndose al simpático activado por la allostasis .

Coste o carga allostática quiere significar el desmejoramiento en cuerpo o cerebro que puede producirse por el uso de la allostasis .

Sobrecarga o sobrecoste allostático es cuando la energía extra demandada por el estado allostático sobrepasa a la energía general del organismo disponible en el caso de la sobrecarga Tipo I.

En el caso de la Tipo II se produce cuando el proceso allostático se hace crónico por demasiado tiempo en el ejercicio de la allostasis. La Tipo II es la que se produce en sociedades occidentales, del llamado, generalmente, primer mundo, que tienen exceso de comida disponible.

Estos conceptos recientemente establecidos y, además, todos acuñados en el siglo XXI, son conceptos heurísticos, establecidos en vertiente de investigación, para llegar a la comprensión de las posibles consecuencias patológicas, con todos sus matices, de la gran adaptación multidimensional que, a través del cerebro, se realiza, en momentos de peligro, con fines de supervivencia de los organismos .

Y para que se puedan comprender claramente estos conceptos, recientemente acuñados, les voy a mostrar los esquemas publicados por el grupo de McEwen en *Hormon Behaviour* en 2003 (21).

Es un esquema muy simplificado puesto que solamente contempla las modificaciones que produce la allostasis en el metabolismo energético, que, aunque es central entre los sistemas que se modifican en los procesos allostáticos, no es, ni mucho menos, el único, puesto que, como hemos dicho, la allostasis es multidimensional y modifica, a través del cerebro, muchos otros sistemas. Sin embargo, quizá por esa simplificación, ayuda sin duda a la comprensión del concepto allostático y de las consecuencias patológicas que puede producir. Ayuda a situarnos, conceptualmente, en la posición científica actual de estas cuestiones y de sus posibles consecuencias patológicas.

En el esquema de la regulaciones energéticas, en situación normal (Figura 7) consideran que hay que tener en cuenta, por una parte, la energía general disponible (EG) del organismo que vendría representada por la energía proporcionada por los alimentos, aunque realmente también existe en los procesos allostáticos una energía producida por la degradación de las reservas orgánicas, triglicéridos, glucógeno y proteínas; debido a la acción catabólica de los

glucocorticoides. Pero, finalmente, la energía disponible puede concretarse en la que proporcionan los alimentos (Figura 7).

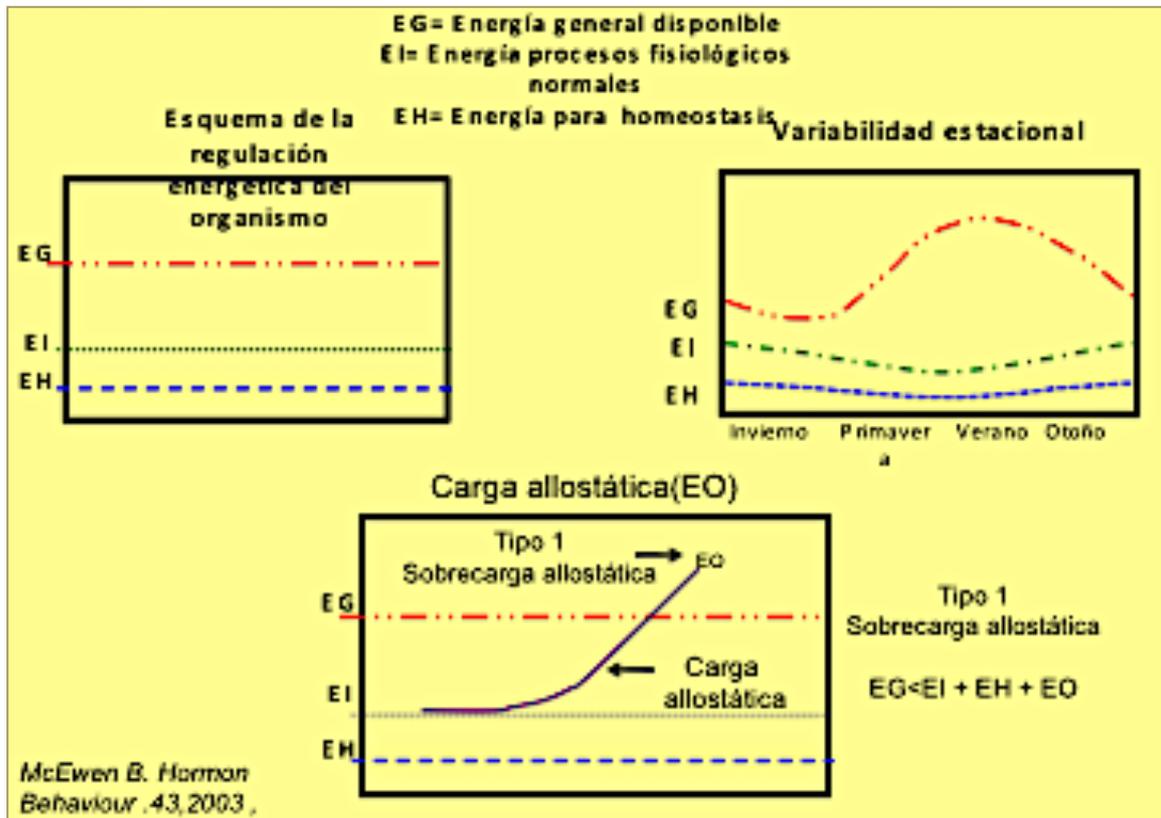


Figura 7.- En parte superior energías necesarias en el organismo en situación normal, EI para funciones fisiológicas, EH para regular la homeostasis orgánica, EG energía general disponible en los alimentos ingeridos Parte inferior EO carga allostática o energía demandada para procesos allostáticos que se transforma en sobrecarga Tipo I cuando $EG < EI + EH + EO$ y EO sobrepasa EG. Gráfica modificada de cita (16).

Luego están las energías necesarias para los procesos fisiológicos, como la digestión etc., que se engloba en la energía necesaria para procesos internos que llamaremos EI y, finalmente la energía para mantener la homeostasis de los parámetros absolutamente necesarios para la supervivencia como los niveles de glucosa o de pH, etc. que designamos EH.

Los autores señalan que en el reino animal existe una variabilidad estacional, puesto que en primavera y verano, generalmente hay más comida y aumentara la energía disponible EG y también las energías internas EI y EH serán más bajas porque la temperatura ambiente disminuye. La carga allostática viene representada por EO (Figura 7), y es la energía extra demandada al organismo cuando un proceso allostático se dispara por producirse un acontecimiento ambiental no predeterminado; como una tormenta, un terremoto etc. La carga allostática solamente se convertirá en sobrecarga allostática Tipo I cuando la energía demandada EO para el proceso allostático sobrepase la energía general

disponible EG. Porque cuando EO esta por debajo de EG tendremos, simplemente carga allostática, y no se producirán nunca patologías como resultado de un proceso allostático.

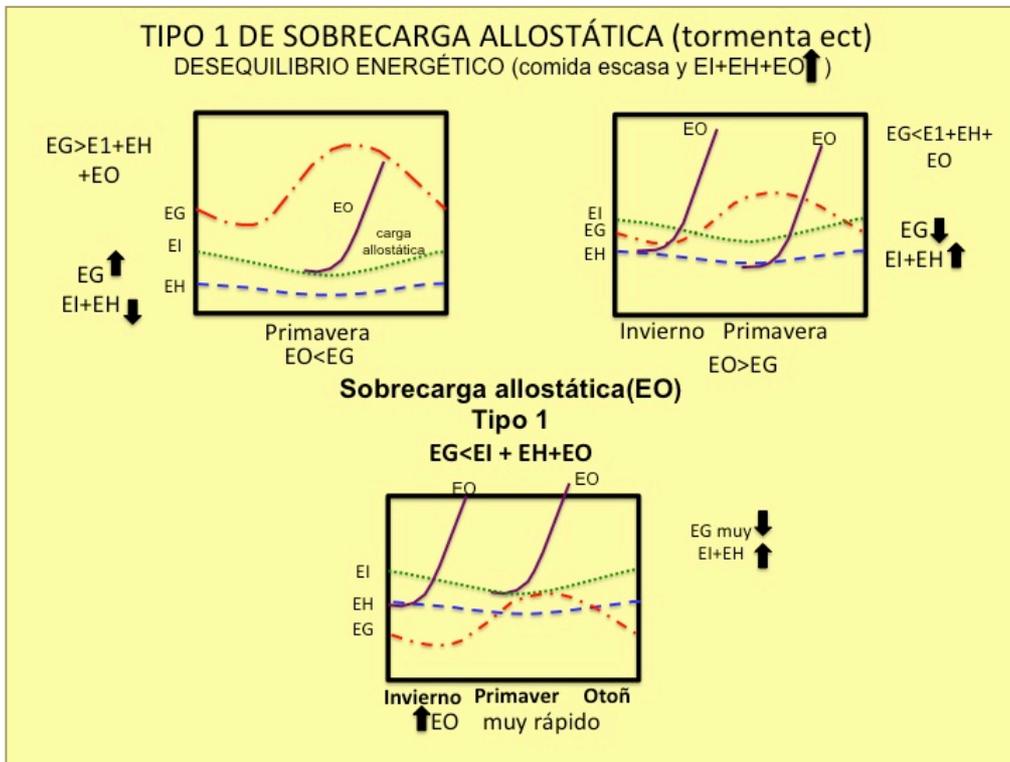


Figura 8.- La carga allostática se transforma en sobrecarga Tipo I cuando sobreviene una alteración ambiental (tormenta, etc.) y EO, carga allostática, sube por arriba de EG, energía disponible, y se produce un desequilibrio energético. Sucede más tarde en primavera y más pronto en invierno. Es la sobrecarga que acontece en el mundo animal o en el humano de países en desarrollo, también llamados tercer mundo con falta de comida. Gráfica modificada de cita (16).

Ellos argumentan que la sobrecarga allostática Tipo I es la que se sufre en el reino animal y, también, en las sociedades humanas en vías de desarrollo. En ellas un acontecimiento ambiental no predeterminado ni previsto produce un desequilibrio energético por comida escasa. Por baja energía disponible en el organismo, (baja EG) o bien por altas demandas en energías internas (aumento de energía para procesos fisiológicos (EI) o aumento de energía por la homeostasis básica (EH)). Esta situación de aumento de las energías internas EI o EH puede producirse en el caso de una epidemia tanto en el mundo animal como en sociedades humanas en desarrollo.

En ambos casos, el desequilibrio energético producido hace que la carga allostática EO se convierta en sobrecarga allostática Tipo I en la cual EG es menor que la suma de EI +EH+EO (Figura 8).

Y la pregunta que surge es ¿qué hacen en el reino animal o en las sociedades humanas deprimidas en recursos para sobrevivir? Pues, emigran. Los animales se

trasladan a un lugar donde haya más comida y mejor temperatura. Y los humanos del, también llamado, tercer mundo hacen lo mismo.... Las pateras que llegan a nuestras costas desde África vienen buscando comida o dinero para comprarla en nuestras sociedades .

Y todo ello sucede porque en un proceso allostático los mediadores de la allostásis, los glucocorticoides, las citoquinas pro y anti inflamatorias, etc., suben paralelamente a la carga allostática EO y se produce un estado allostático crónico y, entonces, los mediadores de la allostasis circulantes harán al organismo muy vulnerable a muchas patologías: diabetes II, patologías cardiovasculares, o modificación de estructuras cerebrales límbicas por glucocorticoides con consecuencia de depresiones, etc. Ya que en una situación en que los mediadores de la allostásis están altos se produce un desequilibrio metabólico compensatorio como hiperinsulinemia, etc. Y todo ello de una forma global en el organismo y regido a nivel cerebral.

Pero, los últimos años, se ha venido hablando, y publicando, cada vez con más frecuencia, sobre los peligros de la sobrecarga allostática Tipo II que es la que se viene padeciendo en las sociedades occidentales, también llamadas primer mundo (Figura 9).

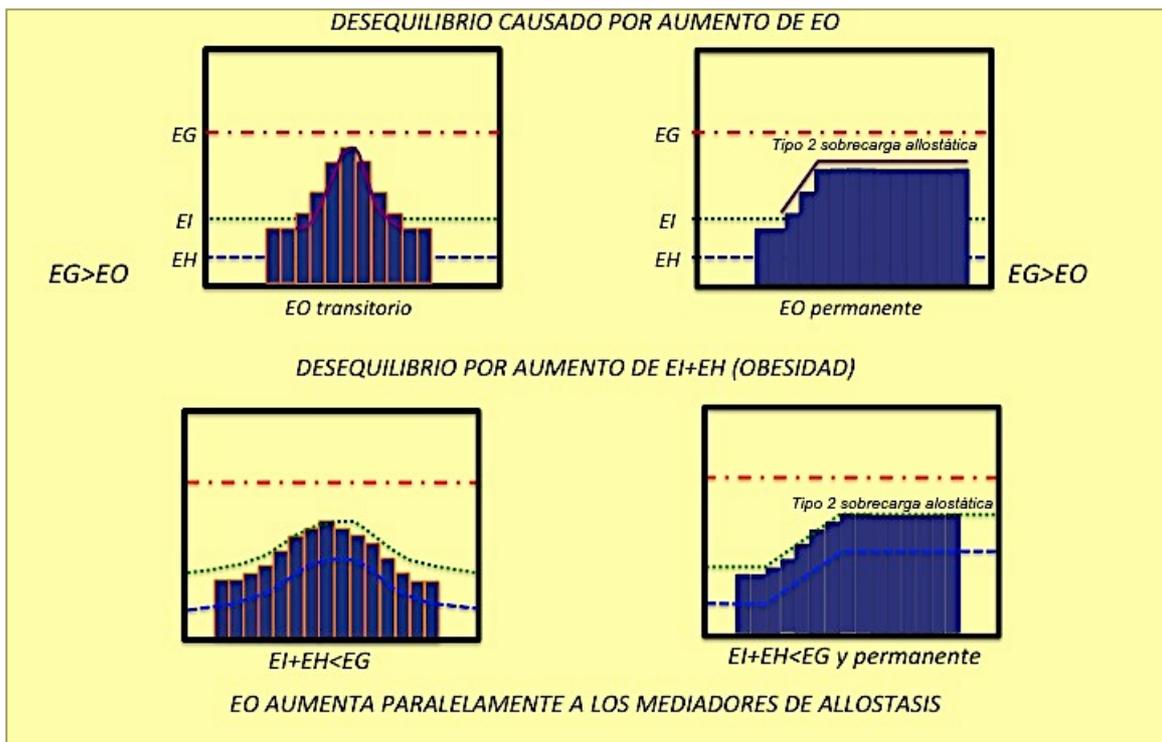


Figura 9.- En el Tipo 2 de sobrecarga allostática nunca se produce desequilibrio energético porque siempre hay EG por encima de EO. Pero al subir la carga allostática EO aumentan paralelamente los mediadores de la allostásis y si la situación permanece aumenta desmedidamente la vulnerabilidad del organismo. Ver parte inferior de gráfica: eso ocurre en una situación de obesidad sostenida. Esta es la sobrecarga allostática de los humanos en el mundo occidental. Gráfica modificada de cita (16).

En el mundo occidental, hay siempre comida abundante, nunca la energía extra demandada por un proceso allostático sobrepasara la energía general disponible EG. En ese caso no se producirá desequilibrio energético. Pero, sin embargo, los humanos del llamado primer mundo se ven asaltados por lo que los científicos definen “adversidad psicosocial” o bajo estatus psico-económico-social (SES).

Están sometidos, cada vez más, a situaciones y acontecimientos que no controlan: crisis económicas que no saben como van a evolucionar, ni cuando acaban, tienen miedo a perder su puesto de trabajo, y todo ello les crea una situación de incertidumbre que es vivida por su cerebro como un estado de emergencia y que disparará su axis HPA y comenzaran en su plasma a subir los niveles de glucocorticoides y todos los mediadores de la allostasis. Es lo que se ha acuñado en el mundo anglosajón como vivir en un estado psico-económico –social (SES) bajo.

Si dicho estado es transitorio. puede que no presenten patologías secundarias, pero si el proceso allostático permanece, los mediadores de la allostasis, entre los cuales ocupan, un lugar central, los niveles de glucocorticoides, producirán hipertensión, alteraciones cardiovasculares y diabetes II. Y, en general, todas las patologías englobadas en el llamado síndrome metabólico. Patologías que, por otra parte, están aumentando, alarmantemente, en las sociedades occidentales. Porque, además, los glucocorticoides producirán, finalmente, un desequilibrio metabólico con hiperinsulinemia y, además, el individuo, en una situación de abundancia de comida y sufriendo un estado de ansiedad, comienza a comer exageradamente y se instala la obesidad.

En esa circunstancia, si trata su obesidad rápidamente, (parte baja izquierda de la figura.9) con dieta adecuada y con tratamiento psiquiátrico para la situación de ansiedad, puede que controle sus patologías secundarias, pero si se instala la obesidad, dicha situación requerirá más demanda para las energías internas de su organismo; las necesarias para procesos fisiológicos (EI) y para la homeostasis básica EH, y, entonces, irremediamente, vendrá la hipertensión, diabetes II o alteraciones cardiovasculares, etc. (parte baja derecha de la figura 9).

Y todo ello no son elucubraciones de investigadores básicos, existen estudios rigurosos epidemiológicos en humano, comenzados a principios de los años 90, por ejemplo en el Servicio Civil Británico Whitehall (22) realizados en fabricas, en poblaciones de personas sometidas a trabajos repetitivos, con disciplinas férreas, con un estatus económico social bajo, con educación insuficiente, sin saber que deben controlar su salud y su ansiedad con ejercicio físico y, en ellos, aparece la grasa abdominal, la hipertensión, alteraciones cardiovasculares, diabetes II, etc. (Esquema 1) cada vez más frecuentes en las sociedades del llamado primer mundo. Y, también, con más frecuencia alteraciones

psiquiátricas desde depresiones hasta esquizofrenias (Esquema1). Dado que en el sistema límbico están muy extendidas las receptores de glucocorticoides modificando estructuras por tener, de forma crónica, niveles altos mantenidos de corticoides circulantes .



Esquema 1.- Estudios epidemiológicos en humanos por el Servicio Civil Británico WHITEHALL.

Es muy interesante hacer notar que los mismos cuadros patológicos descritos en las sociedades del llamado primer mundo, se presentan, denunciados en clínica veterinaria, en los animales en cautividad (23,24). Sin duda, el organismo animal y el humano no tienen previstas estas situaciones de incertidumbre, de mal ambiente social, de problemas interpersonales en la sociedad actual, ni sus consecuencias patológicas. Todo ello porque el cerebro vive dichas situaciones como de peligro y, en consecuencia, se dispara su axis HPA y los mediadores de la allostasis comienzan a subir en plasma.

También existen estudios epidemiológicos realizados en Rusia cuando se hundió el régimen comunista creando grandes problemas psico-económico-sociales y de relaciones interpersonales en mucha gente lo que aumentó en un 40% las muertes por patologías cardiovasculares (25).

Esa es pues la denuncia actual de los investigadores de estas temáticas ante los estudios epidemiológicos realizados. Hemos creado unas sociedades que no tienen en cuenta el animal que somos y sus respuestas, como tampoco se tiene en cuenta que los organismos de los animales en cautividad van a enfermar porque no están preparados para defenderse del ambiente vital de la cautividad. De alguna

manera, viven en un ambiente similar al de los hombres de las sociedades occidentales y, en ambos, se provocan las mismas patologías.

Dicho de otro modo, en las sociedades occidentales el cerebro de algunos humanos vive y reconoce un estado de peligro similar a lo que hace el cerebro de los animales en cautividad, y se pone en marcha el mismo proceso allostático. Y en ese caso de sobrecarga Tipo 2 los animales en cautividad o las personas, en el primer mundo, no pueden emigrar y huir del problema, como en el caso de Tipo I hacen para salvaguardar su equilibrio energético. Su supervivencia, en condiciones saludables adecuadas, depende de que cambien sus circunstancias vitales y/o que aprendan, de alguna manera, a sobrellevar dicha sobrecarga probablemente con ayuda de terapéuticas psiquiátricas, o cambio de lugar de trabajo y/o de su propia manera de enfrentarse a sus dificultades ambientales. Todo lo cual son procesos terapéuticos mucho más complejos.

En este momento existen a partir de los años 90 muchas publicaciones científicas con denuncias similares y, muchas de ellas, en vertiente psiquiátrica (26-30).

Esa es la verdadera denuncia actual de los científicos con los conocimientos adquiridos durante todo el siglo XX en esta temática Y ello, además esta reformando los conceptos de salud y enfermedad.

El mejor ejemplo de la denuncia científica, y de cómo influye el estatus socioeconómico en las patologías humanas del mundo occidental es el trabajo realizado por el Servicio Civil Británico que comenzó a partir de la década de 1990 (22).

Todos estos nuevos conceptos acerca de los procesos allostáticos a través del cerebro han hecho replantearse el concepto de salud y de enfermedad.

Existen muchos artículos en vertiente psiquiátrica (31,32) al respecto e igualmente se están estudiando muchas cuestiones, entre ellas la colaboración, a nivel cerebral, entre esteroides gonadales y corticoadrenalares (33) así como el interesante tema del concepto darwiniano del estrés (34).

En un trabajo de McEwen en el año 2000, reflexiona acerca de la capacidad de los glucocorticoides de modificar estructuras del hipocampo con las consiguientes consecuencias cognitivas, capacidad de aprendizaje y de memoria en el cual termina diciendo “la remodelación del hipocampo puede ser solamente la cima del iceberg ; otras regiones cerebrales pueden también estar afectadas” (35).

7. CONCLUSIONES

El estudio de la regulación del axis HPA, en situaciones de emergencia, ha situado en el cerebro la diana de los mediadores de la respuesta al estrés y ha

mostrado la importancia de la modulación epigenética perinatal para la salud adulta.

El término *alostasis*, acuñado como nombre para los procesos de respuesta al estrés a través del cerebro, es un ejemplo relevante del dinamismo y plasticidad cerebral.

Según estos conceptos la salud se mantiene logrando una buena adaptabilidad a los estados de emergencia, y el proceso de envejecimiento sería, en parte, la suma de costes allostáticos a través de la vida producidos por adversidades fisiológicas o psicosociales.

8. REFERENCIAS

1. Simerly R B. (2002) "Wired for reproduction: organization and development of sexually dimorphic circuits in mammalian forebrain. *Ann. Rev. Neurosc.* 25:507-36.
2. Pascual-Leone A.M. y Goya Suarez L. (2008) "Síndrome metabólico y desarrollo perinatal :alteraciones corticosuprarrenales En: "Desarrollo Perinatal: origen de patologías adultas" Monografía XXIII, Instituto de España, Real Academia Nacional de Farmacia , Editores: Pascual-Leone A.M. y Medina J.M., pag 27 Madrid.
3. Pascual-Leone A.M. (2010) "Acciones cerebrales de los esteroides: estado actual de la respuesta al estrés e implicaciones en la conducta" En: "Acción de las hormonas a nivel cerebral", Monografía XXIX Eds. Pascual-Leone A.M. y Medina J.M. pag 35 Madrid.
4. Selye H.(1936) A syndrome produced by diverse nocuous agent. *Nature* 138:132
5. Selye H. (1950) Stress and the general adaptation syndrome *Bri. Med. J.* 4667:1383-92.
6. McEwen BS. et al. (1968) Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain . *Nature* 220: 911-912.
7. McEwen BS. (1999) Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev. Neurosci.* 22:105-122.
8. McEwen BS. (1998) Protective and damaging effects of stress mediators *N Engl. J Med* 338:171-179.
9. Seckl J.R. (2004) Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *European J.Endocrinol* 151:149-62.
10. Maccari S., Moeley-Fletcher S. (2007) Effects of prenatal restraint stress on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and related behaviour and neurobiological alterations. *Psiconeuroendocrinology* 32 (Suppl.1) S10-S15.
11. Meaney MJ. et al. (2000) Postnatal handling increase the expression of cAMP -inducible transcripcion factors in the rat hippocampus: the effects of thyroid hormones and serotonin *J. of Neurociencia* 20: 3926-35.
12. Weaver ICG., Meaney MJ et al. (2004) Epigenetic programming by maternal behaviour *Nature Neuroscience* 7: nº8, 1-8.
13. McEwen BS. and Alves SH (1999) Estrogen action in the central nervous system *Endocrine Rev.* 20, 279-307.
14. McEwen BS et al. (1999) Inhibition of dendritic spine induction on hippocampal CA1 pyramidal neurons by a non-steroidal estrogen antagonist in female rats. *Endocrinology* 140: 1044-47.
15. McEwen BS. (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol.Rev.*87:873-904.
16. McEwen BS. and Milner T. A. (2007) Hippocampal formation: Shedding light on the influence of sex and stress on the brain. *Brain Research Review* 55: 343-55.
17. Orchinik M. et al. (1994) Mechanistic and functional studies of rapid corticosteroid actions *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 746:101-14.
18. Sterling P. and Eyer J. (1988) *Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology.* En: Fisher. S. Reason J (eds) *Hansbook of life stress, cognition and health.* New York. pp 629-49.

19. Taylor SE., Klein, IC et al. (2000) Biobehavioral response to estress in female: tend and befriend, not, fight or flight. *Psychol. Rev.* 107: 411-29.
20. Darnaudery M. and Maccari S. (2008) Epigenetic programming of the stress response in male and female rats by prenatal restraint stress. *Brain Research review* 57:571-85.
21. McEwen BS and Wing J.C. (2003) The concept of allostasis in biology and biomedicine *Hormon and behaviour* 43: 2-15.
22. Marmot MG. et al. (1991) Health inequalities among British civil servants: The Whithall II study *Lancet*, 337: 1387-93.
23. Butterwick RF., Hawthorne AJ. (1998) Advances in dietary management of obesity in dog and cats. *J. Nutr.*128: 2771S-2775S
24. Shafrir E. (1997) Diabetes in animals in :Porte D. JR. , Sherwin RS (eds) *Ellenburgand Rifkin 's Diabetes Mellitus* Appleton and Lange Press , Stanford pp 301-348.
25. Bobak M et al. (1998) Socioeconomic factors, perceived control and self-reported health in Russia. A cross-sectional survey. *Soc. Sci. Med* 47: 269-79.
26. Adler N. et al. (1993) Socioeconomic inequalities in health: no easy solution . *J. Am. Med. Assoc.* 269, 3140-3145.
27. Adler et al. (1994) Socioeconomic status and health: the challenge of the gradient *Am. Psychol.* 49:15-24.
28. Dohrenwend BP. et al. (1992) Socioeconomic status and psychiatric disorders: causation – selection issue. *Science* 255: 946-52.
29. Mc. EWen BS. (2000) Allostasis and allostasis load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology* 22: 108-124.
30. Stark JL. et al. (2001) Social stress induces glucocorticoid resistance in macrophages. *Am. J. Physiol. Reg. Integr. Comp. Physiol.* 280:R1799-R1805.
31. Nesse R.M. (2001) On the difficulty of defining disease: a Darwinian perspective. *Medicine Health Care and Phylosophy* 4: 37-46.
32. Kloet E.R. et al. (2008) Neuropharmacology of glucocorticoids: Focus on emotion, cognition and cocaine. *European J. of Pharmacology* 585: 473-82.
33. Cahill L. (2006) Why sex matters for neuroscience *Nature Reviews Neuroscience* (AOP, published online 10 May 2006; doi: 10. 1038/nrn1909.
34. Korte S.M., Mc Ewen BS et al. (2005) The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and cost of allostaric load and the trade-offs in health and disease *Neuroscience and Biobehaviour Reviews* 293-38.
35. McEwen BS. (2000) Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biol. Psychiatry* 48:721-31.

Control hipotalámico de las interacciones neuroendocrinas

Blanca Lizarbe y Sebastián Cerdán*

Instituto de Investigaciones Biomédicas "Alberto Sols" CSIC/UAM, c/ Arturo Duperier 4. 28029 Madrid (España).
e-mail: scerdan@iib.uam.es

Recibido el 27 de marzo de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 1 (2013), pag. 90-110

FISIOLOGIA Y CONTROL CEREBRAL DEL COMPORTAMIENTO. Mesa Redonda celebrada en la Real Academia Nacional de Farmacia el día 29 de noviembre del 2012. Coordinadora: A. M. Pascual-Leone Académica de Número de la RANF.

RESUMEN

El hipotálamo juega en los mamíferos superiores un papel central en la integración de funciones vitales como la regulación del metabolismo energético global, la saciedad y el hambre, el control de la presión sanguínea y la temperatura corporal, la sed, hidratación y metabolismo salino del organismo, y las funciones testiculares y ováricas, entre otras. Muchas de estas funciones neuroendocrinas se realizan mediante el control del funcionamiento de la hipófisis, utilizando un complejo sistema de retroalimentación que modula la secreción de una gran variedad de hormonas hipofisarias con efectos sistémicos de vital importancia, incluyendo las hormonas tiroideas o la hormona del crecimiento, entre otras. El hipotálamo consta de aproximadamente una docena de subestructuras, conocidas como núcleos hipotalámicos, que se encargan de controlar los diversos procesos. Hasta muy recientemente no ha sido posible evaluar la función hipotalámica directamente *in vivo*, un aspecto que se resolvía mediante procedimientos indirectos como la determinación de cambios en el peso corporal, eliminación de líquidos, alteraciones en la termorregulación o desequilibrios en el perfil de hormonas en sangre. En esta revisión describiremos toda una nueva serie de métodos de imagen no invasiva para la evaluación directa de la función hipotalámica y su impacto potencial en nuestro conocimiento actual de la regulación de las interacciones neuroendocrinas, con especial referencia a la regulación hipotalámica del apetito *in vivo*.

Palabras clave: Hipotálamo; Núcleos hipotalámicos; Control del apetito; Imagen por Resonancia Magnética; Espectroscopía por Resonancia Magnética.

ABSTRACT

Control of hypothalamic neuroendocrine interactions

The hypothalamus plays in higher mammals a central role in the integration of vital functions as the regulation of global energy metabolism, satiety and hunger, the control of blood pressure and body temperature, thirst, hydration and electrolyte metabolism, testicular and or ovarian functions, among others. Many of these neuroendocrine functions are performed through the control of the performance of the hypophysis, using a complex system of feed- back loops that modulate the secretion of large variety of hypophysary hormones with systemic effects of vital importance, including the thyroid and growth hormones, among others. The hypothalamus has approximately a dozen of substructures, known as hypothalamic nuclei, which control the different processes. Until very recently, it has not been possible to evaluate directly the hypothalamic function *in vivo*, an aspect solved through indirect measurements as the determination of bodyweight changes, liquid elimination and alterations in thermoregulation or disequilibria in the hormonal profiles in blood. In this review we shall describe a novel series of non-invasive imaging and spectroscopy methods for the direct evaluation of hypothalamic function and their potential impact on our current knowledge of neuroendocrine regulation, with special reference to the hypothalamic regulation of appetite *in vivo*.

Keywords: Hypothalamus; Hypothalamic nuclei; Appetite control; Magnetic Resonance Imaging; Magnetic Resonance Spectroscopy.

1. INTRODUCCIÓN

El hipotálamo es una pequeña estructura cerebral responsable del equilibrio homeostático de funciones sistémicas vitales como el metabolismo energético global, el apetito, la sed y la regulación osmótica, la termorregulación, los ritmos circadianos y algunas respuestas fundamentales para la supervivencia como la agresividad (1,2). La evaluación de su actividad fisiológica *in vivo* se ha realizado, hasta muy recientemente, empleando métodos indirectos como las medidas de peso corporal e ingesta de alimentos, o abordajes invasivos, midiendo concentraciones de hormonas en sangre o mediante la implantación de microelectrodos (3,4).

Los procedimientos no invasivos de evaluación de la función hipotalámica, han permanecido limitados hasta muy recientemente, por las dificultades impuestas en la adquisición de imágenes por las reducidas dimensiones del hipotálamo y por la complejidad de los procesos retroalimentación que subyacen a la función hipotalámica.

Las nuevas tecnologías de Resonancia Magnética proporcionan herramientas robustas que permiten superar estas limitaciones, habiendo proporcionado en la última década, resultados funcionales importantes sobre la fisiología hipotalámica *in vivo* (5,6).

En este contexto, resulta apropiado revisar el progreso adquirido hasta ahora y evaluar críticamente las ventajas e inconvenientes de cada abordaje.

El presente trabajo revisará la información generada mediante la aplicación al hipotálamo de técnicas de imagen y espectroscopía por Resonancia Magnética, proporcionando algunas recomendaciones para futuras aplicaciones.

Dada la diversidad de las funciones hipotalámicas, este trabajo se centrará principalmente en la regulación del apetito y metabolismo energético global, una de las funciones hipotalámicas con mayor repercusión fisiopatológica y socioeconómica.

Comenzaremos con una breve descripción de los mecanismos fisiológicos de control del apetito, para describir después las tecnologías MRI utilizadas en su evaluación, incluyendo BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent contrast; Contraste basado en la oxigenación de la sangre), MEMRI (Manganese Enhanced Magnetic Resonance Imaging; Resonancia Magnética potenciada en captación de Mn^{2+}) y DWI (Diffusion Weighted Magnetic Resonance Imaging; Resonancia magnética potenciada en difusión).

Terminaremos con una revisión crítica de las contribuciones de la espectroscopía por Resonancia Magnética, tanto *in vivo* como en el “ángulo mágico” (HRMAS; High Resolution Magic Angle Spinning) y una propuesta de actividades futuras.

2. CONTROL HIPOTALÁMICO DEL APETITO

Nuestro conocimiento sobre los mecanismos hipotalámicos que regulan el apetito y la homeostasis energética ha progresado considerablemente en los últimos años (7). El control del apetito se entiende, en el contexto actual, como el resultado de un complejo balance entre señales periféricas e intrahipotalámicas que controlan, a corto plazo, la sensación de hambre o saciedad, y a largo plazo, la regulación del peso corporal y balance energético (8).

Estos procesos parecen incluir además, la participación de otras estructuras cerebrales, corticales, límbicas y del tronco cerebral. Las principales señales periféricas son la leptina, una hormona producida en el tejido adiposo, y la insulina, una hormona proveniente del páncreas. Además, participan como señales del estado energético periférico, péptidos que provienen del estómago, como el

péptido YY (PYY), la oxintomodulina (OXM), la grelina, el péptido análogo de glucagón 1 (GLP-1) y la colecistokinina (CKK). Estas señales pasan con facilidad la frágil barrera hematoencefálica del hipotálamo y, una vez allí, modulan la actividad catabólica (+) o anabólica (-) de los núcleos Arcuado (ARC), Ventromedial (VMN), Dorsomedial (DMN) y Paraventricular (PVN) (Figura 1). Estos controlan la ingesta de comida mediante procesos altamente evolucionados de “feed-back” o retroalimentación entre señales orexigénicas (de estimulación de apetito) y anorexigénicas (de saciedad) (9).

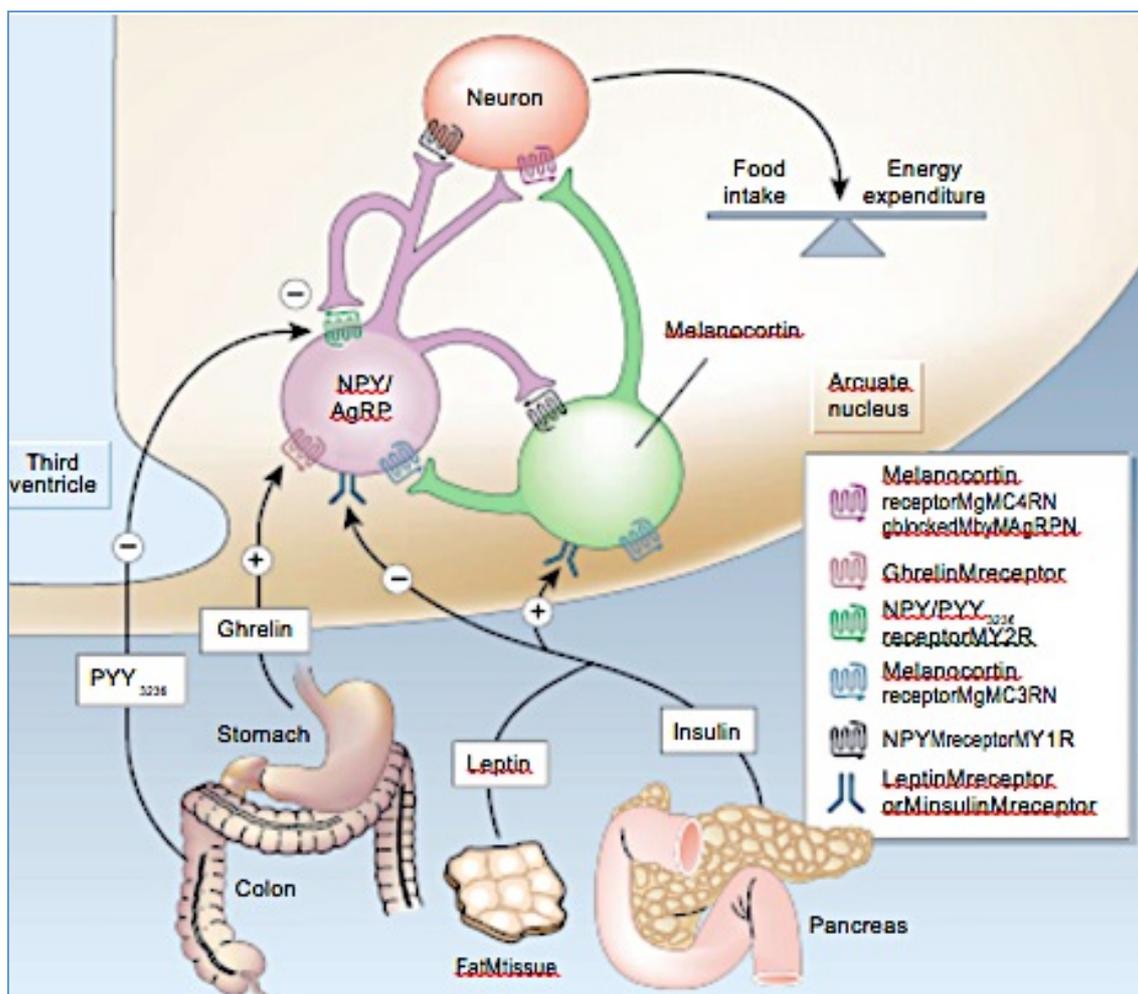


Figura 1.- Control hipotalámico del balance energético global. El apetito está regulado por un balance complejo que involucra señales endocrinas originadas en los tejidos periféricos y péptidos intrahipotalámicos. La leptina y la insulina inhiben las neuronas orexigénicas NPY/AgRP (morado) y estimulan las neuronas anorexigénicas de melancortina (verde), produciendo una disminución del apetito. La grelina o el péptido PYY3-36 inhiben las NPY/AgPR resultando en respuestas orexigénicas o anorexigénicas, respectivamente. Imagen obtenida de (10) y reproducida con permiso de la revista.

La Figura 1 resume estos procesos incluyendo, las hormonas leptina e insulina , que pueden tener distinto efecto dependiendo de su concentración en

sangre, las señales periféricas con efectos orexigénicos (grelina) o anorexigénicos (PYY) (10) y los componentes de señalización intrahipotalámicos. Las cantidades de leptina e insulina circulan en sangre en función de la cantidad de grasa corporal y de los niveles de glucosa, respectivamente, llegando al hipotálamo a través del núcleo ARC, donde la barrera hematoencefálica (BBB) resulta altamente permeable. La llegada en exceso de estas señales inhibe la activación de las neuronas orexigénicas del Neuropeptido Y (NPY) y Agouti Related Peptide (AgRP) (color morado) y activa las neuronas anorexigénicas de melacortina (α -MSH) y del transcrito regulado por anfetamina (Cocaine-Anphetamine-Regulated Transcript; CART) (en verde). Este balance tiene como consecuencia una disminución de la ingesta de comida (saciedad) y un incremento del gasto energético. Los niveles bajos de leptina e insulina en sangre promueven, en cambio, la activación de las neuronas orexigénicas y la inhibición de las anorexigénicas, produciendo un aumento de la sensación de hambre y un ahorro en el gasto energético.

La acción de la grelina y el péptido PYY3-36, segregados en el estómago y en el colon, respectivamente, proporcionan al núcleo ARC señales positivas (grelina) y negativas (PYY) que a corto plazo promueven sensaciones de hambre y saciedad, respectivamente, mediante la activación o inhibición selectiva de los grupos neuronales específicos del hipotálamo (11). A más largo plazo, los niveles altos de leptina e insulina en sangre pueden producir una desensibilización de sus receptores, originando fenómenos de resistencia a la insulina y/o leptina, aumentando los niveles de glucosa en plasma y la acumulación de lípidos, que pueden causar eventualmente diabetes y obesidad.

3. ESTUDIOS DE MRI DE LA REGULACIÓN HIPOTALÁMICA DEL APETITO

Las técnicas de imagen más utilizadas en estudios de regulación del apetito in vivo son: BOLD, MEMRI y DWI. BOLD infiere la actividad neuronal en las regiones cerebrales activadas por los niveles de deoxihemoglobina paramagnética y los cambios en perfusión sanguínea (12,13). MEMRI utiliza la acumulación de Mn^{2+} paramagnético durante la activación neuronal, un fenómeno que refleja competitivamente la acumulación de Ca^{2+} durante los potenciales de acción (14). DWI detecta la activación neuronal por los cambios en los parámetros de difusión del agua, consecuencia de los flujos transcelulares de iones que ocurren durante la neurotransmisión (15), aunque también se han atribuido los cambios a la aparición de procesos inflamatorios relacionados con la obesidad (16,17).

A continuación, se proporciona una descripción detallada de la información conseguida con cada una de estas metodologías.

BOLD

BOLD es una de las técnicas más utilizadas para estudiar la actividad funcional del cerebro, tanto animales como en seres humanos. Se empleó para detectar, a finales de los años noventa, la respuesta del hipotálamo a administraciones de glucosa (18,19). En ambos estudios, uno con seres humanos y el otro con ratas, se administró glucosa a sujetos ayunados y se detectó una disminución significativa de la señal de resonancia en hipotálamo tras su administración. En el estudio con humanos, se comparó la atenuación de la señal entre personas obesas y personas no obesas, resultando la inhibición de las primeras mucho menor y demostrando *in vivo* por primera vez la existencia de una funcionalidad alterada en el hipotálamo de sujetos obesos.

Unos años más tarde, se estableció la primera correlación de BOLD, como contraste de los centros de regulación del apetito en animales, con un marcador de activación neuronal muy establecido, c-Fos (20). Esta correlación se verificó un tiempo después (21), en un estudio en el que se comparó el efecto de la administración de 2-deoxy-D- glucosa en los núcleos hipotalámicos con mapas de actividad de c-Fos en los mismos. Desde entonces, el uso de la técnica BOLD para el estudio de la regulación del apetito en animales ha generado un número importante de contribuciones, sobre todo relacionadas con los efectos de activación hipotalámica tras la administración de diferentes dietas o péptidos (22,23).

En los estudios con seres humanos, se ha dedicado un esfuerzo considerable a estudiar la contribución de otras zonas cerebrales extrahipotalámicas a la regulación integral del apetito, utilizando estimulaciones del apetito mediante activaciones visuales (fotografías de comida) (24), o respuestas específicas a distintos sabores (25).

La Figura 2, ilustra una aplicación representativa de la imagen BOLD aplicada a un estudio de regulación del apetito. Este estudio monitorizó la actividad cerebral de voluntarios humanos tras visualizar fotografías de alimentos calóricos y no calóricos y de utensilios relacionados con la comida, pero no comestibles. Se encontraron áreas de activación comunes a los estímulos de comida, independientemente de su contenido calórico, como la amígdala o el hipocampo. Solamente las fotografías de alimentos de alto valor calórico activaron las zonas del hipotálamo, entre otras regiones.

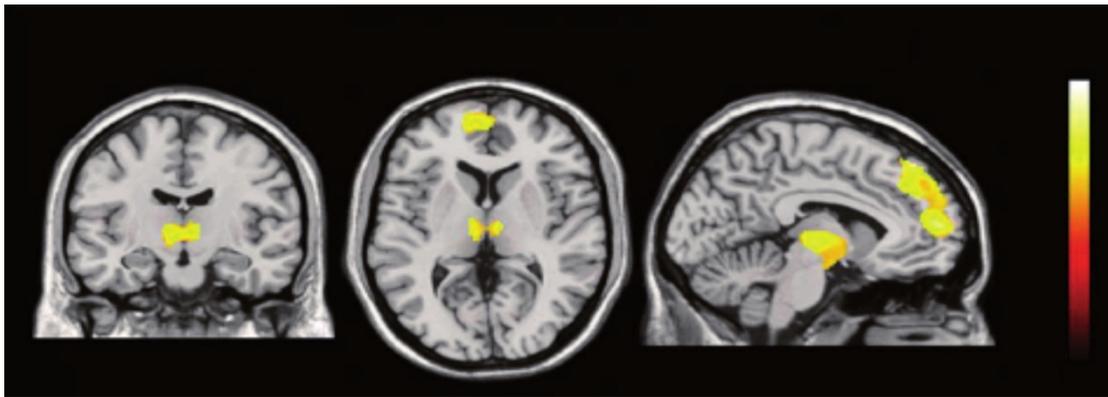


Figura 2.- Mapas paramétricos estadísticos (SPM) de las regiones activadas en el cerebro humano, medidos con BOLD, durante la visualización de imágenes de alto contenido calórico. La barra de color refleja la escala de la estadística SPM utilizada para el análisis. La corteza prefrontal y dorsolateral, el tálamo y el hipotálamo muestran activación significativa ($p < 0.005$) relativamente a la activación detectada tras mostrar fotografías de utensilios no comestibles. Reproducido de (29) con permiso del editor.

Estos estudios, demostraron que el apetito en seres humanos es el resultado de un complejo entramado de redes neuronales que incluye, además del hipotálamo y del tronco encefálico, regiones corticolímbicas y corticales. Esta múltiple regulación está relacionada aparentemente con los efectos cerebrales de recompensa a la ingesta de comida, con los estímulos del apetito presentes en el ambiente, y con otros factores cognitivos o incluso emocionales (26).

En este contexto, se han investigado con éxito las respuestas funcionales a señales orexigénicas y anorexigénicas en el cerebro humano. Estudios BOLD de administración del péptido PYY a voluntarios humanos sanos (27) con niveles altos de PYY en plasma indicaron que, como sucede en los estados alimentados, la activación cerebral de la corteza orbitofrontal caudolateral (OFC) predice la ingesta de comida. Por lo contrario, niveles bajos de PYY en plasma, como sucede en condiciones de ayuno, es la actividad hipotalámica la está correlacionada con la ingesta de comida. Así se pudo demostrar por primera vez que la presencia de una señal de saciedad post-ingesta cambia las zonas de activación cerebral.

Casi al mismo tiempo, en estudios de administración de grelina, una señal orexigénica (28) se pudo demostrar que la respuesta neuronal a estímulos visuales relacionados con el apetito era superior también en la zona OFC, y en otras regiones implicadas en la codificación de incentivos del apetito. En definitiva este trabajo demostró, que la presencia de señales metabólicas como la grelina podía favorecer el consumo de alimentos mediante la activación de zonas del sistema hedónico.

Más recientemente, las aplicaciones de BOLD en estudios de regulación del apetito cubren principalmente tres ámbitos: la respuesta hipotalámica a la glucosa en condiciones normales o patológicas (29,30), las diferencias en control cerebral

de apetito en personas obesas (31), y los efectos de las hormonas y péptidos en la regulación del apetito(32-34).

MEMRI

La imagen MEMRI refleja de una forma directa y no invasiva la acumulación de Mn^{2+} en las neuronas activadas, a través de los canales de calcio dependientes del voltaje. Esta se extiende trans-sinápticamente, y permite la creación de mapas de conectividad neural por contraste de Mn^{2+} (35). Muy posiblemente, la acumulación de Mn^{2+} excede los tractos neuronales y se extiende hasta los astrocitos y redes de astrocitos circundantes, a través de las numerosas gap-junctions que existen entre los mismos (36). En particular, ha sido posible demostrar que la activación neuronal va acompañada de ondas intracelulares y extracelulares de Ca^{2+} (37,38). Los iones de Mn^{2+} presentan un radio iónico es muy similar al del Ca^{2+} , por lo que pueden mimetizar muy adecuadamente y de manera competitiva las acumulaciones de Ca^{2+} durante la activación neuronal.

Sin embargo, en contraste con los iones Ca^{2+} que son diamagnéticos, los iones Mn^{2+} son paramagnéticos, por lo que inducen una reducción muy importante del tiempo de relajación T1 del agua, que resulta fácilmente detectable en imágenes de resonancia pesadas en T1. Así, las áreas de activación y acumulación de Mn^{2+} aparecen claramente más brillantes que las que no lo acumulan, en lo que se conoce como efecto MEMRI (Manganese Enhanced Magnetic Resonance Imaging) (39).

La técnica MEMRI presenta, sin embargo, una limitación importante, debido a que el Mn^{2+} presenta notables efectos neurotóxicos. Esto se debe a su competición con los flujos intracelulares de Ca^{2+} , una circunstancia que termina por alterar procesos metabólicos vitales como el ciclo tricarboxílico, los intercambios neurogliales de los neurotransmisores glutamato o GABA y los niveles fisiológicos de metabolitos hipotalámicos (40-42). Por ello, MEMRI sólo puede ser utilizada hasta ahora en animales de experimentación.

A pesar de sus limitaciones, MEMRI se ha utilizado con éxito para detectar actividad cerebral en ratones, y su arquitectura y conectividad neuronal, desde el comienzo de los años dos mil (43,44). Las primeras aplicaciones de MEMRI al estudio de la activación hipotalámica relacionada con el control apetito, aparecieron en 2006 (45,46).

En su trabajo, Kuo et al. compararon la activación detectada en hipotálamo de ratones alimentados o ayunados, encontrando regiones específicas de activación, y siendo los primeros en conseguir la entrada directa de Mn^{2+} sanguíneo al hipotálamo, sin necesitar de la rotura previa de la barrera hematoencefálica.

Por su parte, Chaudri et al. encontraron diferentes patrones de activación en el hipotálamo de ratones tras administrar oxintomodulina (OXM) y GLP-1, ambas hormonas anorexigénicas y generadas en el estómago. La administración de OXM produjo en una disminución del contraste en la imagen, indicando una disminución de la actividad neuronal, en los núcleos ARC, PVN y supraóptico del hipotálamo. GLP-1 causó, sin embargo, una disminución del contraste solamente en el PVN, y un incremento del mismo en el núcleo VMN. Este estudio mostró por primera vez cómo dos péptidos aparentemente similares podían tener distintos patrones de activación hipotalámica. Desde entonces, varios grupos han focalizado su trabajo a la aplicación de MEMRI para el estudio de la funcionalidad hipotalámica en la regulación del apetito; con estudios de administración de péptidos (47-49), activación cerebral en ratones transgénicos (50) y respuesta hipotalámica a alteraciones de ingesta de comida (51,52). Además, durante los últimos años, el creciente interés en las aplicaciones de MEMRI y su posible interacción con diversos procesos hipotalámicos, ha generado la aparición de un número elevado de trabajos que combinan MEMRI con otras técnicas, sobre todo espectroscópicas con objeto de validar con MEMRI los diversos abordajes (50,53,40,54).

La Figura 3 muestra un ejemplo representativo de la utilización de MEMRI en el hipotálamo. Se trata de la comparación de la actividad neuronal de los núcleos hipotalámicos en ratones normales y ratones genéticamente obesos (ob/ob), en condiciones de alimentación ad libitum. En este estudio, se infundió Mn^{2+} en la vena de la cola de ratones control y de ratones obesos, deficientes en leptina, y se analizó la intensidad de señal resultante en los núcleos VMN (o VMH) y ARC, y la zona del cuarto ventrículo (V4). El contraste de manganeso comporta un mayor incremento de señal específico en los ratones obesos (en negro) que en los controles (en gris), en los núcleos ARC y VMN; algo que no sucede en el V4. Esta circunstancia revela una mayor estimulación orexigénica de los animales obesos, selectiva en ARC y VMN, en las mismas condiciones de alimentación que los controles.

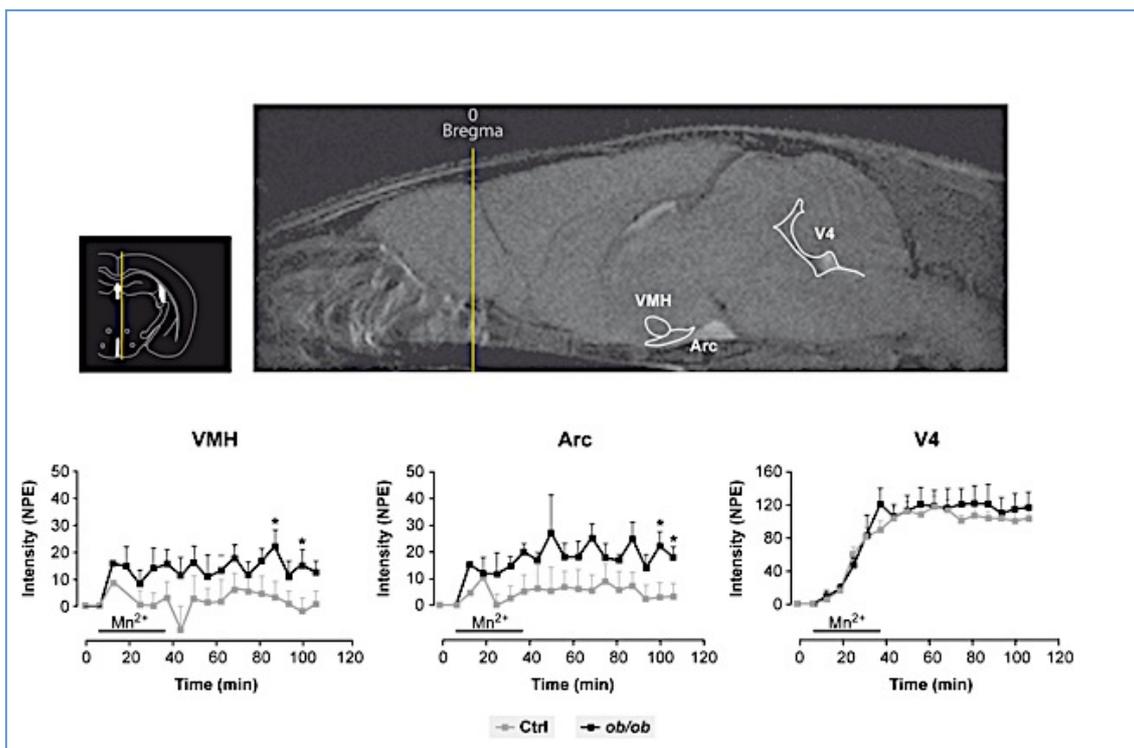


Figura 3.- Respuesta MEMRI en ratones obesos y ratones control. Inserto superior izquierdo: Localización del hipotálamo, tercer y cuarto ventrículo en un atlas anatómico [81]. Superior derecha: Incremento de señal inducido por el contraste de Mn^{2+} (MEMRI) en el núcleo ARC, VMN y en el cuarto ventrículo (v4). Paneles inferiores: cinética del incremento MEMRI en ARC, VMN y V4. Los ratones obesos (círculos negros) presentan mayor señal con los controles (círculos grises) en los núcleos hipotalámicos, pero no el ventrículo, revelando un efecto específico en estos. Reproducida de (50) con el permiso de la revista.

DWI

La interpretación de los modelos biofísicos que subyacen a los cambios en la difusión browniana del agua en estados fisiológicos y patológicos, ha representado un motivo de discusión frecuente en las últimas décadas.

La difusión de las moléculas de agua es un proceso aleatorio, y en medios homogéneos, el decaimiento de la señal de resonancia magnética se puede describir por una función monoexponencial caracterizada por un coeficiente de difusión D .

En la señal observada con DWI, sin embargo, lo que se obtiene es resultado de la integración de los desplazamientos microscópicos de todas las moléculas de agua presentes en un vóxel, por lo que D , se define mejor mediante un parámetro de difusión aparente (ADC) (55).

En relación con el control del apetito, algunos grupos han estudiado el papel del ADC en distintas regiones cerebrales de pacientes obesos y no obesos (16). Este estudio mostró que, el hipotálamo de los pacientes obesos presenta un mayor

valor de ADC, muy posiblemente debido a una distribución neurovascular alterada de fluidos, como ocurre en el edema vasogénico. De hecho, se ha demostrado que la obesidad está asociada a una respuesta inflamatoria crónica, caracterizada por una producción anormal de adipokinas y la activación de algunas rutas de señalización pro-inflamatorias. Esta una situación produce la inducción de varios marcadores de inflamación (56) y que apoya las evidencias de que las dietas de alto contenido calórico activan respuestas proinflamatorias en el hipotálamo (57,58). Esto sugiere que las respuestas inflamatorias podrían ser las verdaderas responsables de la resistencia a insulina y leptina inducida por las dietas de alto contenido calórico (59,60). Adicionalmente, la inflamación puede directamente dañar el tejido cerebral, aumentando la permeabilidad de los vasos sanguíneos y causando eventualmente un incremento del número de células inflamatorias en el líquido cefalorraquídeo y en los espacios perivasculares en el cerebro (61).

En este sentido, un trabajo reciente (62), ha permitido determinar que los sujetos con mayor peso corporal presentan reducciones significativas en la integridad vascular de las estructuras cerebrales relacionadas con el control del apetito y los nuevos resultados de nuestro laboratorio, sugieren que la respuesta inflamatoria podría ocurrir no solo en la obesidad, sino también de forma transitoria en estados de ayuno (63).

En otros estudios, se han utilizado los cambios en ADC para describir la activación neuronal en seres humanos, en animales y biopsias ex vivo (15, 64-66), asociando la disminución del ADC observada a un aumento de volumen neurocelular, ligado a la activación neuronal. De hecho, el aumento de volumen neurocelular causado por la activación neuronal ha sido demostrado también por otras técnicas (67-69). El amplio rango de valores de difusión con los que se trabajaba en estos estudios, originó la aparición de modelos de difusión más elaborados, como el biexponencial (70).

Interesantemente, otros estudios demostraron que el cambio de señal de difusión tras activación neuronal se produce antes que el cambio detectado mediante las técnicas BOLD (65,71).

En este contexto, la primera aplicación fDWI al estudio del control del apetito, fue publicada recientemente por nuestro laboratorio (63). Nuestros resultados mostraron que los coeficientes de difusión del agua en el hipotálamo cambian en situaciones de ayuno, tanto en ratones como en seres humanos. En ratones, fue posible detectar cambios en los núcleos ARC, DMN y VMN. Sobre esta base, es posible afirmar que la aplicación de fDWI al estudio de la activación cerebral en general, y de la hipotalámica en particular, abre un nuevo camino en neuroimagen funcional; donde los cambios detectados mediante las técnicas de difusión ocurren anteriormente a los detectados en BOLD (70), evitando además el

uso potencialmente tóxico de las técnicas MEMRI. Además, la capacidad de DWI de detectar diferencias en la dirección preferencial de la difusión mediante la implementación de medidas del tensor de difusión (DTI) (72,73) permitirá en el futuro, la investigación no invasiva de tractos neuronales específicos y sus posibles alteraciones en desordenes del apetito.

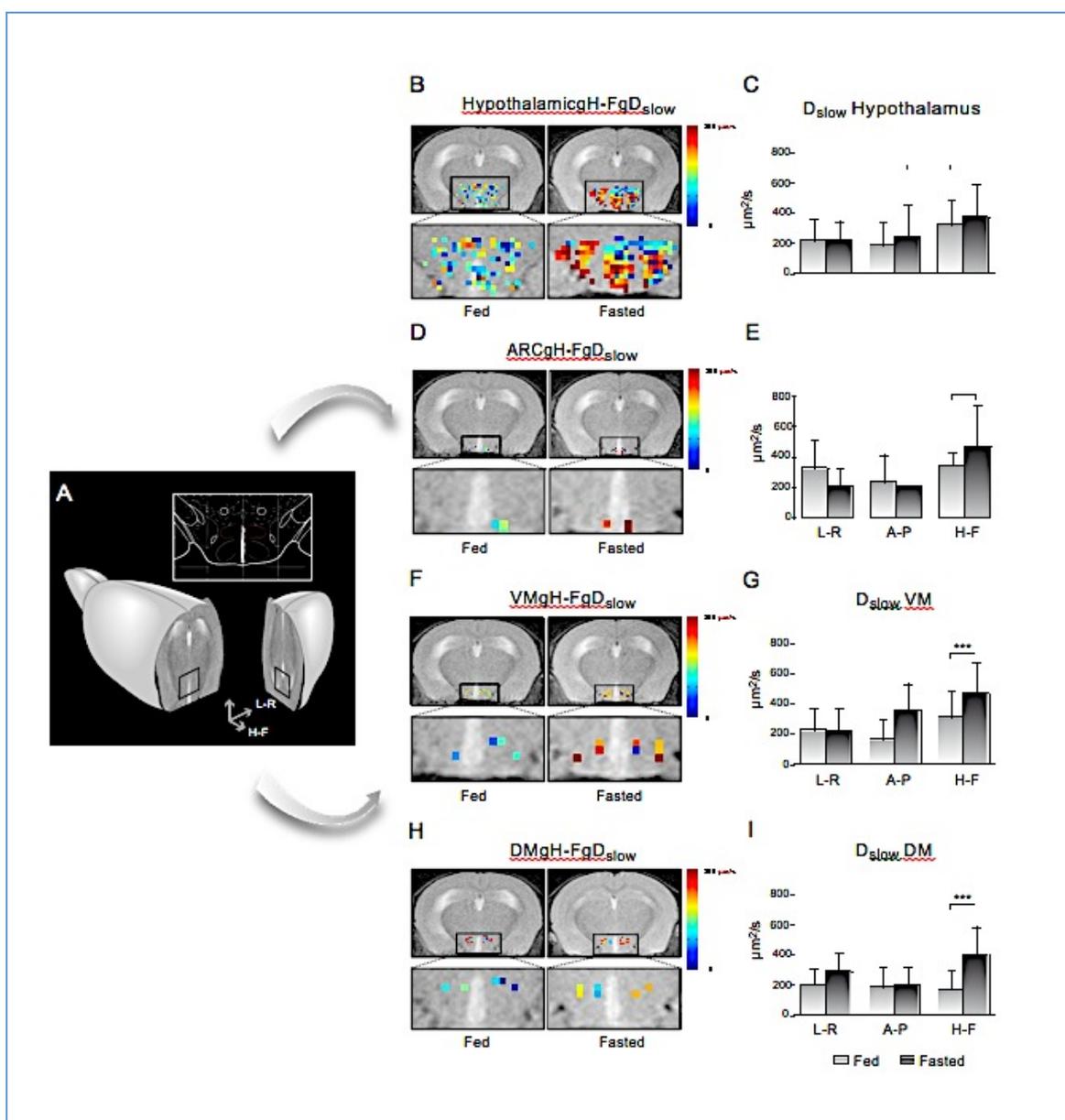


Figura 4.- Representación del apetito mediante fDWI en los núcleos hipotalámicos del cerebro de ratón. A: Sección axial que contiene el hipotálamo de un ratón representativo y un inserto de un atlas anatómico que muestra la localización de los núcleos; DMN (rojo), VMN (amarillo) y ARC (azul). B, D, F, H: Mapas de color de la difusión en ratones alimentados (izquierda) y ayunados (derecha), superpuestos a imágenes pesadas en T2 (T2w). La región hipotalámica se muestra expandida en los correspondientes paneles inferiores. C, E, G, I: Gráficos de barras del promedio del coeficiente de difusión lenta (D_{slow}) correspondiente a cada uno de los paneles B, D, F, H, respectivamente. Reproducido de (63) con permiso de la revista.

La Figura 4 muestra un ejemplo representativo del uso de fDWI en el estudio de activación hipotalámica en ratones, mediante los cambios observados en los parámetros de difusión del agua en distintos núcleos hipotalámicos, incluyendo el ARC, VMN y DMN, cuya localización anatómica puede observarse en detalle en el panel 5A. Los paneles 5B, 5D, 5F y 5H muestran los mapas paramétricos del coeficiente lento de la difusión (Dslow) de un animal representativo en estado alimentado (izquierda) y tras un ayuno nocturno (derecha) en el hipotálamo, ARC, VMN y ARC, respectivamente. Los gráficos de barras en los paneles 5C, 5E, 5G y 5I representan los valores promedio del parámetro correspondiente en siete animales. El incremento significativo de Dslow con el ayuno se puede interpretar como consecuencia del incremento de volumen celular consecuencia de la activación neuronal (60).

4. ESTUDIOS DE MRS DE LA REGULACIÓN HIPOTALÁMICA DEL APETITO

Los métodos de imagen pueden ser completados por varias técnicas espectroscópicas, principalmente in vivo ^1H MRS y ex vivo ^1H y ^{13}C HRMAS. Estos métodos han demostrado, recientemente, haber superado las restricciones que impedían previamente evaluar adecuadamente la fisiología hipotalámica, principalmente por la necesidad de utilizar grandes volúmenes de tejido para alcanzar suficiente resolución.

In vivo ^1H MRS de alto campo

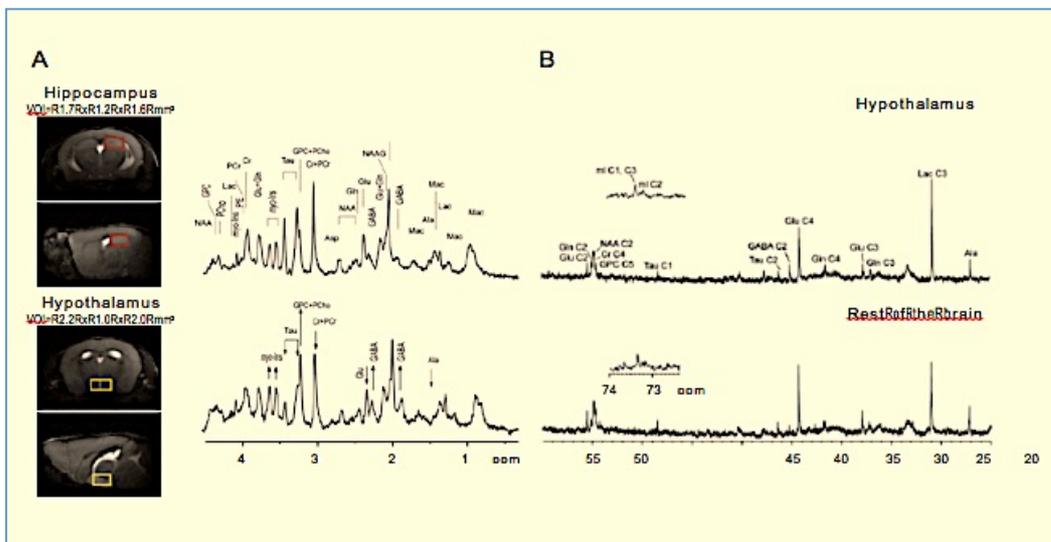


Figura 5.- Espectroscopía multinuclear del hipotálamo. Izquierda: Espectroscopía in vivo de ^1H en el hipocampo (paneles superiores) y en el hipotálamo (paneles inferiores) y sus correspondientes espectros. Nótese los incrementos relativos de GABA y myo-inositol (flecha hacia arriba) y decrecimientos de glutamato y taurina (flecha hacia abajo). Reproducido de (75) con permiso de la revista. Derecha: Espectro de ^{13}C HRMAS de biopsias hipotalámicas (arriba) preparado después de la administración de $[1-^{13}\text{C}]$ glucosa, comparado con el resto del cerebro (abajo) en un ratón ayunado. Reproducido de (80) con permiso de la revista.

La espectroscopía de ^1H MRS de alto campo (14.1T) se ha utilizado para obtener perfiles metabólicos de elevada calidad en el hipotálamo de ratón *in vivo* (74,75). Los autores describieron que el perfil metabólico del hipotálamo es diferente del de otras estructuras cerebrales como el hipocampo.

En particular, el hipotálamo contiene concentraciones más altas de ácido γ -aminobutírico (GABA) y myo-inositol, y menores concentraciones de taurina (Figura 5A). Por otro lado, la espectroscopía de ^1H alto campo también se ha utilizado de forma combinada con técnicas de imagen (52). En este caso, los autores estudiaron la activación hipotalámica en ratas mediante el paradigma de Anorexia Inducida por Deshidratación (DIA), en ratas ayunadas una noche y en ratas control. El contraste de Mn^{2+} detectó activación neuronal en dos núcleos hipotalámicos: en el hipotálamo lateral (LH) y en el Periventricular (PVN), revelando una activación superior en las ratas con DIA. Por otro lado, en el perfil metabólico analizado con espectroscopía a 14.1T, se encontraron incrementos significativos de GABA en las dos condiciones respecto a las ratas control, mientras que el lactato aumentó solamente en las ratas DIA. En su conjunto, estos estudios muestran como la espectroscopía de alto campo *in vivo* acoplada con MEMRI, puede proporcionar una información muy relevante sobre los mecanismos hipotalámicos de control del apetito, balance energético global y control de peso en roedores.

Espectroscopía ^{13}C y ^1H de alto campo en ángulo mágico

La espectroscopía de ^{13}C es un método que ha mostrado un gran potencial en la investigación de los mecanismos de acoplamiento neuroglial tanto *in vivo* como *in vitro* (76-79). La baja abundancia natural del ^{13}C (1,1%), sin embargo, y la baja sensibilidad del método, imponían la necesidad de utilizar vóxeles de tamaño relativamente grande *in vivo*, que excedían significativamente las dimensiones del hipotálamo.

Para superar este inconveniente, nuestro laboratorio ha implementado recientemente una nueva colección de métodos espectroscópicos *ex vivo*, concretamente la espectroscopía de ^{13}C alta resolución de ángulo mágico (HRMAS). Adquiriendo espectros de resonancia magnética de biopsias hipotalámicas, con la muestra inclinada 54.7 grados con respecto al campo magnético estático, se eliminan los acoplamientos dipolares que ensanchan las resonancias *in vivo*, y se obtienen espectros de alta resolución de la biopsia similares a los que se obtienen en solución. Notablemente, estos espectros pueden obtenerse con muestras de tan solo 5-10 mg, un tamaño similar al del hipotálamo en roedores. Utilizando esta tecnología, se han investigado los efectos del ayuno nocturno y de la administración de grelina en el perfil metabólico, así como la incorporación de ^{13}C desde ($1\text{-}^{13}\text{C}$) glucosa en los metabolitos hipotalámicos (80).

Los resultados mostraron que el ayuno nocturno induce incrementos significativos en la incorporación de ^{13}C en (2- ^{13}C) GABA y (3- ^{13}C) Lactato, mientras que la infusión del péptido orexigénico no afectó al marcaje en ^{13}C de los metabolitos. Estos resultados revelaron que el ayuno parece incrementar las neurotransmisiones GABAérgicas y la glucólisis. Sin embargo, la infusión de grelina no induce los mismos efectos, indicando que factores adicionales a la grelina resultan necesarios para mimetizar la compleja respuesta hipotalámica.

Finalmente, se han investigado recientemente los mecanismos neurogliales relacionados con la señalización de la leptina en el hipotálamo, empleando ratones ob/ob, deficientes en leptina, y ratones control (50). Este estudio combinó técnicas MEMRI con ^1H y ^{13}C HRMAS, empleando infusiones de (1- ^{13}C) glucosa, un sustrato principalmente neuronal, o de (2- ^{13}C) acetato, un sustrato primordialmente glial. Los ratones deficientes en leptina mostraron un contraste de Mn^{2+} aumentado en los núcleos hipotalámicos (Figura 3) y una acumulación incrementada de ^{13}C , solamente en los carbonos de glutamato y glutamina derivados de (1- ^{13}C) glucosa, pero no en los derivados de (2- ^{13}C) acetato.

El abordaje combinado MEMRI- ^{13}C HRMAS mostró por primera vez que el incremento en la señal MEMRI asociada a la activación neuronal de las rutas orexigénicas, ocurre simultáneamente con un incremento en el metabolismo oxidativo y en el ciclo glutamato-glutamina que soporta la neurotransmisión glutamatérgica. Considerando estas observaciones junto con las evidencias de aumento de neurotransmisiones GABAérgicas (80), los resultados parecen indicar que la estimulación orexigénica del hipotálamo resulta en un incremento de neurotransmisiones GABAérgicas y glutamatérgicas, implicando un aumento de los ciclos transcelulares de glutamato-glutamina y GABA entre neuronas y astrocitos. En general, los resultados adquiridos hasta ahora indican que los eventos de transmisión sináptica que soportan la señalización neuroendocrina en el hipotálamo siguen unos mecanismos de compartimentación neuroglial similares a otros tipos de activaciones sensoriales o motoras, pero bajo control hormonal.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS.

Las secciones anteriores han resumido la información obtenida sobre la función hipotalámica de regulación del apetito *in vivo*, utilizando técnicas de imagen y espectroscopía por Resonancia Magnética. Los resultados revelan que la estimulación orexigénica está asociada a: un incremento de perfusión sanguínea del hipotálamo como revelan las técnicas BOLD, un incremento de actividad neuronal glutamatérgica y GABAérgica como revelan los estudios MEMRI y ^{13}C HRMAS y un incremento de volumen neuroglial compatible con la acumulación de

iones asociada al disparo de las neuronas orexigénicas y a fenómenos inflamatorios, como revelan las técnicas fDWI.

Estas características hacen que la transmisión neuroendocrina durante el apetito adopte mecanismos sinápticos similares a otras formas de estimulación sensorial o motora. Sin embargo, en las sinapsis neuroendocrinas, la transmisión del mensaje glutamatérgico o GABAérgico, parece estar controlada principalmente por la concentración sanguínea del efector hormonal que podría interactuar adicionalmente con elementos del sistema inmunitario y de la cascada inflamatoria, resultando en el sistema más complejo de neuroregulación que conocemos.

Por otro lado, las técnicas de Resonancia Magnética han permitido diseñar un nuevo escenario para los mecanismos neuroendocrinos que subyacen a la regulación del apetito. A pesar del progreso alcanzado, varios aspectos importantes permanecen aún por esclarecer. En particular, la discriminación entre neurotransmisiones activadoras e inhibitoras resulta difícil mediante estas metodologías, pues ambas conducen al mismo resultado espectroscópico o de imagen. Tampoco resulta posible incrementar aún más la resolución espacial y temporal de la imaginería mejorando la resolución obtenida de los núcleos hipotalámicos y alcanzando resoluciones celulares o subcelulares. La combinación de técnicas MRI o MRS con abordajes electrofisiológicos hipotalámicos y la utilización de imanes de campo magnético superior al actual podría contribuir a superar estas limitaciones.

Finalmente, los abordajes MRI y MRS descritos en esta revisión para la elucidación de los mecanismos de regulación hipotalámica del apetito *in vivo*, pueden ser fácilmente extendidos a otras funciones hipotalámicas incluyendo, la sed y osmoregulación, la regulación de la presión sanguínea, la termorregulación, los ritmos circadianos y algunas manifestaciones de agresividad.

6. AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su agradecimiento a D. Javier Pérez CSIC, por su competencia en la preparación de las ilustraciones.

Este trabajo ha sido financiado en parte por las ayudas: SAF-2008-01327, SAF2011-23622 del Ministerio de Economía y Competitividad y S2010/BMD-2349 de la Comunidad de Madrid concedidas a Sebastián Cerdán y la beca predoctoral BES 2009-027615 del Ministerio de Economía y Competitividad concedida a Blanca Lizarbe.

7. ABREVIATURAS

ARC: núcleo Arcuado, **AgRP:** Agouti related protein, **BOLD:** Contraste en Imagen por Resonancia Magnética ponderada en el nivel de oxigenación de la sangre, **CART:** transcrito regulado por cocaína y anfetamina, **DIA:** Anorexia inducida por deshidratación, **DMD:** núcleo dorsomedial, **DWI:** Imagen por Resonancia Magnética ponderada en difusión, **MEMRI:** Imagen por Resonancia Magnética ponderada en captación de manganeso, **MRI:** Imagen por Resonancia Magnética, **MRS:** Espectroscopía por Resonancia Magnética, **MSH:** ruta de la melanocortina, **NPY:** neuropéptido Y, **VMN:** núcleo Ventromedial, **V4:** cuarto ventrículo.

8. REFERENCIAS

1. Lin, D., et al.(2011) Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus. *Nature*. 470(7333): p. 221-6.
2. Swaab, D.F., Hofman, M.A., Mirmiran, M., Ravid, R., van Leewen, F.W. Eds.(1992) The human hypothalamus in health and disease. Proceedings of the 17th International Summer School of Brain Research. Amsterdam, The Netherlands, 26-30 August 1991. *Prog Brain Res*. 93: p. 1-481.
3. Mori, Y., et al.(1991) Chronic recording of electrophysiological manifestation of the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity in the goat. *Neuroendocrinology*. 53(4): p. 392-5.
4. Sani, S., et al.(2009) Microelectrode recording in the posterior hypothalamic region in humans. *Neurosurgery*. 64(3 Suppl): p. ons161-7; discussion ons167-9.
5. Carnell, S., et al.(2012) Neuroimaging and obesity: current knowledge and future directions. *Obes Rev*. 13(1): p. 43-56.
6. Gibson, C.D., et al.(2010) Neuroimaging, gut peptides and obesity: novel studies of the neurobiology of appetite. *J Neuroendocrinol*. 22(8): p. 833-45.
7. Coll, A.P., I.S. Farooqi, and S. O'Rahilly(2007) The hormonal control of food intake. *Cell*. 129(2): p. 251-62.
8. Morton, G.J., et al.(2006) Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*. 443(7109): p. 289-95.
9. Stanley, S., et al.(2005) Hormonal regulation of food intake. *Physiol Rev*. 85(4): p. 1131-58.
10. Schwartz, M.W. and G.J. Morton(2002) Obesity: keeping hunger at bay. *Nature*. 418(6898): p. 595-7.
11. Tang-Christensen, M., et al.(2004) Central administration of ghrelin and agouti-related protein (83-132) increases food intake and decreases spontaneous locomotor activity in rats. *Endocrinology*. 145(10): p. 4645-52.
12. Logothetis, N.K. and B.A. Wandell(2004) Interpreting the BOLD signal. *Annu Rev Physiol*. 66: p. 735-69.
13. Zhu, X.H., et al.(1998) Simultaneous oxygenation and perfusion imaging study of functional activity in primary visual cortex at different visual stimulation frequency: quantitative correlation between BOLD and CBF changes. *Magn Reson Med*. 40(5): p. 703-11.
14. Koretsky, A.P. and A.C. Silva(2004) Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). *NMR Biomed*. 17(8): p. 527-31.

15. Darquie, A., et al.(2001) Transient decrease in water diffusion observed in human occipital cortex during visual stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98(16): p. 9391-5.
16. Alkan, A., et al.(2008) Diffusion-weighted imaging features of brain in obesity. *Magn Reson Imaging.* 26(4): p. 446-50.
17. Mueller, K., et al.(2011) Sex-dependent influences of obesity on cerebral white matter investigated by diffusion-tensor imaging. *PLoS One.* 6(4): p. e18544.
18. Mahankali, S., et al.(2000) In vivo fMRI demonstration of hypothalamic function following intraperitoneal glucose administration in a rat model. *Magn Reson Med.* 43(1): p. 155-9.
19. Matsuda, M., et al.(1999) Altered hypothalamic function in response to glucose ingestion in obese humans. *Diabetes.* 48(9): p. 1801-6.
20. Stark, J.A., et al.(2006) Functional magnetic resonance imaging and c-Fos mapping in rats following an anorectic dose of m-chlorophenylpiperazine. *Neuroimage.* 31(3): p. 1228-37.
21. Dodd, G.T., S.R. Williams, and S.M. Luckman(2010) Functional magnetic resonance imaging and c-Fos mapping in rats following a glucoprivic dose of 2-deoxy-D-glucose. *J Neurochem.* 113(5): p. 1123-32.
22. Li, J., et al.(2012) Correlations of macronutrient-induced functional magnetic resonance imaging signal changes in human brain and gut hormone responses. *Am J Clin Nutr.* 96(2): p. 275-82.
23. Min, D.K., et al.(2011) Changes in differential functional magnetic resonance signals in the rodent brain elicited by mixed-nutrient or protein-enriched meals. *Gastroenterology.* 141(5): p. 1832-41.
24. Killgore, W.D., et al.(2003) Cortical and limbic activation during viewing of high- versus low-calorie foods. *Neuroimage.* 19(4): p. 1381-94.
25. Smeets, P.A., et al.(2005) Functional magnetic resonance imaging of human hypothalamic responses to sweet taste and calories. *Am J Clin Nutr.* 82(5): p. 1011-6.
26. Berthoud, H.R.(2004) Neural control of appetite: cross-talk between homeostatic and non-homeostatic systems. *Appetite.* 43(3): p. 315-7.
27. Batterham, R.L., et al.(2007) PYY modulation of cortical and hypothalamic brain areas predicts feeding behaviour in humans. *Nature.* 450(7166): p. 106-9.
28. Malik, S., et al.(2008) Ghrelin modulates brain activity in areas that control appetitive behavior. *Cell Metab.* 7(5): p. 400-9.
29. Purnell, J.Q., et al.(2011) Brain functional magnetic resonance imaging response to glucose and fructose infusions in humans. *Diabetes Obes Metab.* 13(3): p. 229-34.
30. Vidarsdottir, S., et al.(2007) Glucose ingestion fails to inhibit hypothalamic neuronal activity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 56(10): p. 2547-50.
31. Tomasi, D., et al.(2009) Association of body mass and brain activation during gastric distention: implications for obesity. *PLoS One.* 4(8): p. e6847.
32. Baicy, K., et al.(2007) Leptin replacement alters brain response to food cues in genetically leptin-deficient adults. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104(46): p. 18276-9.
33. Guthoff, M., et al.(2010) Insulin modulates food-related activity in the central nervous system. *J Clin Endocrinol Metab.* 95(2): p. 748-55.
34. Jones, R.B., et al.(2012) Functional neuroimaging demonstrates that ghrelin inhibits the central nervous system response to ingested lipid. *Gut.* 61(11): p. 1543-51.
35. Pautler, R.G.(2004) In vivo, trans-synaptic tract-tracing utilizing manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). *NMR Biomed.* 17(8): p. 595-601.

36. Andrew, R.D., et al.(1981) Dye transfer through gap junctions between neuroendocrine cells of rat hypothalamus. *Science*. 211(4487): p. 1187-9.
37. Jaffe, L.F.(2008) Calcium waves. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 363(1495): p. 1311-6.
38. Jaffe, L.F.(2010) Fast calcium waves. *Cell Calcium*. 48(2-3): p. 102-13.
39. Lee, J.H., et al.(2005) Manganese-enhanced magnetic resonance imaging of mouse brain after systemic administration of MnCl₂: dose-dependent and temporal evolution of T1 contrast. *Magn Reson Med*. 53(3): p. 640-8.
40. Just, N., et al.(2011) Effect of manganese chloride on the neurochemical profile of the rat hypothalamus. *J Cereb Blood Flow Metab*. 31(12): p. 2324-33.
41. Zwingmann, C., D. Leibfritz, and A.S. Hazell(2003) Energy metabolism in astrocytes and neurons treated with manganese: relation among cell-specific energy failure, glucose metabolism, and intercellular trafficking using multinuclear NMR-spectroscopic analysis. *J Cereb Blood Flow Metab*. 23(6): p. 756-71.
42. Zwingmann, C., D. Leibfritz, and A.S. Hazell(2004) Brain energy metabolism in a sub-acute rat model of manganese neurotoxicity: an ex vivo nuclear magnetic resonance study using [1-¹³C]glucose. *Neurotoxicology*. 25(4): p. 573-87.
43. Aoki, I., et al.(2002) Dynamic activity-induced manganese-dependent contrast magnetic resonance imaging (DAIM MRI). *Magn Reson Med*. 48(6): p. 927-33.
44. Aoki, I., et al.(2004) In vivo detection of neuroarchitecture in the rodent brain using manganese-enhanced MRI. *Neuroimage*. 22(3): p. 1046-59.
45. Chaudhri, O.B., et al.(2006) Differential hypothalamic neuronal activation following peripheral injection of GLP-1 and oxyntomodulin in mice detected by manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *Biochem Biophys Res Commun*. 350(2): p. 298-306.
46. Kuo, Y.T., et al.(2006) Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) without compromise of the blood-brain barrier detects hypothalamic neuronal activity in vivo. *NMR Biomed*. 19(8): p. 1028-34.
47. Hankir, M.K., et al.(2011) Peptide YY 3-36 and pancreatic polypeptide differentially regulate hypothalamic neuronal activity in mice in vivo as measured by manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *J Neuroendocrinol*. 23(4): p. 371-80.
48. Parkinson, J.R., O.B. Chaudhri, and J.D. Bell(2009) Imaging appetite-regulating pathways in the central nervous system using manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *Neuroendocrinology*. 89(2): p. 121-30.
49. Parkinson, J.R., et al.(2009) Differential patterns of neuronal activation in the brainstem and hypothalamus following peripheral injection of GLP-1, oxyntomodulin and lithium chloride in mice detected by manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). *Neuroimage*. 44(3): p. 1022-31.
50. Delgado, T.C., et al.(2011) Neuroglial metabolic compartmentation underlying leptin deficiency in the obese ob/ob mice as detected by magnetic resonance imaging and spectroscopy methods. *J Cereb Blood Flow Metab*. 31(12): p. 2257-66.
51. Anastasovska, J., et al.(2012) Fermentable carbohydrate alters hypothalamic neuronal activity and protects against the obesogenic environment. *Obesity (Silver Spring)*. 20(5): p. 1016-23.
52. Just, N. and R. Gruetter(2011) Detection of neuronal activity and metabolism in a model of dehydration-induced anorexia in rats at 14.1 T using manganese-enhanced MRI and ¹H MRS. *NMR Biomed*. 24(10): p. 1326-36.
53. Gutman, D.A., et al.(2013) Mapping of the mouse olfactory system with manganese-enhanced magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging. *Brain Struct Funct*. 218(2): p. 527-37.

54. Silva, A.C.(2012) Using manganese-enhanced MRI to understand BOLD. *Neuroimage*. 62(2): p. 1009-13.
55. Le Bihan, D.(2003) Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Nat Rev Neurosci*. 4(6): p. 469-80.
56. Bastard, J.P., et al.(2006) Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*. 17(1): p. 4-12.
57. De Souza, C.T., et al.(2005) Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology*. 146(10): p. 4192-9.
58. Wang, X., et al.(2012) Increased hypothalamic inflammation associated with the susceptibility to obesity in rats exposed to high-fat diet. *Exp Diabetes Res*. 2012: p. 847246.
59. Kleinridders, A., et al.(2009) MyD88 signaling in the CNS is required for development of fatty acid-induced leptin resistance and diet-induced obesity. *Cell Metab*. 10(4): p. 249-59.
60. Wisse, B.E. and M.W. Schwartz(2009) Does hypothalamic inflammation cause obesity? *Cell Metab*. 10(4): p. 241-2.
61. Man, S., E.E. Ubogu, and R.M. Ransohoff(2007) Inflammatory cell migration into the central nervous system: a few new twists on an old tale. *Brain Pathol*. 17(2): p. 243-50.
62. Cazettes, F., et al.(2011) Obesity-mediated inflammation may damage the brain circuit that regulates food intake. *Brain Res*. 1373: p. 101-9.
63. Lizarbe, B., et al.(2013) Imaging hypothalamic activity using diffusion weighted magnetic resonance imaging in the mouse and human brain. *Neuroimage*. 64: p. 448-57.
64. Flint, J., et al.(2009) Diffusion weighted magnetic resonance imaging of neuronal activity in the hippocampal slice model. *Neuroimage*. 46(2): p. 411-8.
65. Kohno, S., et al.(2009) Water-diffusion slowdown in the human visual cortex on visual stimulation precedes vascular responses. *J Cereb Blood Flow Metab*. 29(6): p. 1197-207.
66. Yacoub, E., et al.(2008) Decreases in ADC observed in tissue areas during activation in the cat visual cortex at 9.4 T using high diffusion sensitization. *Magn Reson Imaging*. 26(7): p. 889-96.
67. Andrew, R.D. and B.A. MacVicar(1994) Imaging cell volume changes and neuronal excitation in the hippocampal slice. *Neuroscience*. 62(2): p. 371-83.
68. Hansson, E., et al.(2000) Astroglia and glutamate in physiology and pathology: aspects on glutamate transport, glutamate-induced cell swelling and gap-junction communication. *Neurochem Int*. 37(2-3): p. 317-29.
69. Stroman, P.W., et al.(2008) Magnetic resonance imaging of neuronal and glial swelling as an indicator of function in cerebral tissue slices. *Magn Reson Med*. 59(4): p. 700-6.
70. Le Bihan, D., et al.(2006) Direct and fast detection of neuronal activation in the human brain with diffusion MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103(21): p. 8263-8.
71. Aso, T., et al.(2013) Comparison of diffusion-weighted fMRI and BOLD fMRI responses in a verbal working memory task. *Neuroimage*. 67: p. 25-32.
72. Ahn, S. and S.K. Lee(2011) Diffusion tensor imaging: exploring the motor networks and clinical applications. *Korean J Radiol*. 12(6): p. 651-61.
73. Le Bihan, D., et al.(2001) Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn. Reson Imaging*. 13(4): p. 534-46.

74. Duarte, J.M., et al.(2012) The neurochemical profile quantified by in vivo ^1H NMR spectroscopy. *Neuroimage*. 61(2): p. 342-62.
75. Lei, H., et al.(2010) Neurochemical profile of the mouse hypothalamus using in vivo ^1H MRS at 14.1T. *NMR Biomed*. 23(6): p. 578-83.
76. Cruz, F. and S. Cerdan(1999) Quantitative ^{13}C NMR studies of metabolic compartmentation in the adult mammalian brain. *NMR Biomed*. 12(7): p. 451-62.
77. Gruetter, R., et al.(2003) Localized in vivo ^{13}C NMR spectroscopy of the brain. *NMR Biomed*. 16(6-7): p. 313-38.
78. Rodrigues, T.B., et al.(2009) ^{13}C NMR tracers in neurochemistry: implications for molecular imaging. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 53(6): p. 631-45.
79. Rothman, D.L., et al.(2003) In vivo NMR studies of the glutamate neurotransmitter flux and neuroenergetics: implications for brain function. *Annu Rev Physiol*. 65: p. 401-27.
80. Violante, I.R., et al.(2009) Cerebral activation by fasting induces lactate accumulation in the hypothalamus. *Magn Reson Med*. 62(2): p. 279-83.
81. Paxinos, G., Franklin, K., *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*2001, New York: Academic Press.

Boticas y boticarios en el Madrid de 1812

Antonio González Bueno

Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica. Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid. Spain.

e-mail: agbueno@ucm.es

Recibido el 18 de noviembre de 2012

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 1 (2013), pag. 111-130

RESUMEN

¿Cómo vivieron los boticarios madrileños el crítico año de 1812?. Un análisis de las fuentes archivísticas y de la prensa periódica contemporánea nos ayuda a desvelar la situación social, económica y profesional de este colectivo analizada tanto desde los aspectos docentes (Real Colegio de Farmacia), como los corporativos (Real Colegio de Profesores Boticarios) y devocionales (Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y San Lucas Evangelista).

Palabras clave: Historia de la Farmacia; Siglo XXI; España.

ABSTRACT

Pharmacies and pharmacists in 1812's Madrid

How did apothecaries live in Madrid the critical year of 1812?. An analysis of archival sources and contemporary periodical press has helped to uncover the social, economic and professional situation of this group, analyzed educational aspects (Real Colegio de Farmacia), corporatives (Real Colegio de Profesores Boticarios) and devotionals ones (Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y San Lucas Evangelista).

Keywords: History of Pharmacy; Nineteenth century; Spain.

1. EL MADRID DE 1812

Mientras el pueblo y los congresistas gaditanos celebraban el nacimiento de la Constitución de 1812, sancionada -no por casualidad- en día de la onomástica del 'rey intruso', los madrileños morían de hambre (1).

El Madrid de 1812, donde se encuentra instalada la corte josefina, es una ciudad en estado de crisis; el doce de enero, el guerrillero Juan Palarea, alias 'el médico', ataca la capital por la zona de Atocha y Las Delicias (2), de donde es rechazado; el 28 de julio, al conocer la derrota de Arapiles, José Bonaparte sale de la ciudad; algo menos de un mes después, el 12 de agosto, las tropas hispano-inglesas entran en ella, se retirarán el 31 de octubre, tras volar las fortificaciones francesas de El Retiro; el 3 de diciembre José Bonaparte volverá a entrar en una desolada y exánime Madrid; no partirá definitivamente de ella hasta marzo de 1813.

La crítica situación política y económica vivida en el Madrid de 1812 hizo florecer ideas políticas contrapuestas en el colectivo, relativamente pequeño, de los farmacéuticos madrileños: Plácido de Briega Regidor (m. 1830), que acababa de enviudar en los inicios de éste 1808, mostró una actitud proclive al absolutismo, mientras que Pedro Gutiérrez Bueno (1743-1822), 'Petrus Bonus' como cariñosamente era apelado por el Bibliotecario mayor, Leandro Fernández de Moratín (3), pasaba por uno de los más amargos momentos de su vida; a la separación *de facto* de su segunda esposa, Josefa Aguado (4), se une el proceso de depuración al que se encuentra sometido al ser acusado de conspiración contra los franceses; las primeras vistas del juicio, ante el Tribunal de Apelaciones y Vigilancia, tienen lugar en la primera quincena de octubre de éste 1812 (5); la resolución habría de esperar a 1814 (6); por las mismas fechas en que Plácido de Briega firma la delación contra los diputados doceañistas (7). Una disensión ideológica que no había impedido la colaboración entre Pedro Gutiérrez Bueno y Plácido de Briega en los años anteriores a esta época de crisis que nos ocupa (8).

La situación económica del vecindario de Madrid rozaba tonos dramáticos; la escasez tocó de lleno el mundo del medicamento. Un suelto del *Diario de Madrid*, inserto en las páginas del número correspondiente al miércoles 11 de noviembre de éste 1812, resulta especialmente ilustrativo:

"El hospital militar, igualmente que los civiles, de esta villa se hallan en el estado mas lastimoso por su extremada escasez, no solo de provisiones sino de medicamentos y utensilios, sin que el Ayuntamiento en el inmenso cúmulo de obligaciones que le abruman pueda hacer otra cosa que sentir íntimamente aquella falta, y suplir á ella mui defectuosamente con el corto auxilio que cabe en sus medios y recursos. Pero confiando en la humanidad y beneficencia del vecindario tantas veces ejercitadas respecto de dichos establecimientos, le ruega

encarecidamente se esfuerce en su alivio con los socorros que pueda, y particularmente en el día con hilas para el militar, del que está absolutamente exhausto; y que se recibirán en el mismo, y en el despacho principal del diario calle de Alcalá...”(9).

Esta crisis afectó también a los recursos económicos de los boticarios, un grupo profesional que, en su conjunto y hasta donde la documentación de carácter económico nos permite conocer, se sitúa en una clase burguesa privilegiada. La disminución de sus ganancias se hace evidente en la imposibilidad de mantener a parte del personal hasta entonces adscrito a su servicio: preceptores, como el que había trabajado en la casa del boticario Benito Calonge (10); mayordomos, como el que sirviera a Silverio Pérez (11); o asistentes como la que trabajaba para el boticario de la calle de Alcalá, anunciarán su disponibilidad laboral desde las páginas del *Diario de Madrid*, ofreciendo sus servicios ‘aunque sea por la mitad del salario’ (12).

2. EL REAL COLEGIO DE FARMACIA

Las *Ordenanzas de Farmacia* promulgadas en 1804 establecieron la fundación, en Madrid, de un Real Colegio de Farmacia, dedicado a la formación de los futuros profesionales, bajo la tutela de la Junta Superior Gubernativa de Farmacia. La institución fue formalmente constituida el 5 de mayo de 1806, empleando como locales los mismos de que disponía el Real Colegio de Boticarios de Madrid, en los comienzos de la calle de Atocha, frente al Hospital General y que, hasta entonces, habían estado ocupados -al menos parcialmente- por el Real Colegio de San Carlos, como vestigio de lo que fue la efímera existencia de la Facultad Reunida, en el inicio del siglo XIX. Allí permanecerá hasta que, en 1815, se trasladara a una nueva sede, en la calle del Barco (13).

Apenas iniciadas sus tareas, en 1812 las enseñanzas se distribuían en tres cursos: Historia Natural con sus ramas (Botánica, Mineralogía y Zoología) constituía el primero; Química se impartía en el segundo y Farmacia en el tercero y así permanecería hasta 1815 en que un cambio en los planes de estudio elevaría a cuatro el número de años que habrían de cursarse. En éste 1812 el Colegio de Farmacia contaba con tal solo dos profesores: Pedro Gutiérrez Bueno, ‘Petrus Bonus’, quien ejercía, cuando su delicada salud se lo permitía (14), como jefe local del Colegio y Antonio de la Cruz Martín.

No disponemos del número de alumnos matriculados en 1812, pero no debió desviarse mucho de los 20 que lo hicieron en 1808 o de los 25 que firmaron en 1813. Las actas del Colegio mantienen que debían matricularse como alumnos todos los practicantes de farmacia, menores de veinticinco años, en especial los

residentes en Madrid. En cualquier caso, la enseñanza, en una situación social tan crítica y ante tal carencia de profesorado, no pasó de ser una quimera.

La actuación de Pedro Gutiérrez Bueno y Antonio de la Cruz se limitó a solventar las cuestiones planteadas por el órgano del que este Real Colegio dependió; a fines de febrero de 1812, el Supremo Consejo de Sanidad se interesará, como simultáneamente hará ante el Real Colegio de Botánicos, por

“... la necesidad q^e hay de una nueva Farmacopea, de Tarifa y Petitorios con las mejoras de q^e son susceptibles estos trabajos (...) esperando q^e ese R^l Colegio de cuya ilustración está bien penetrado el Consejo, prepondera a esta idea por el honor de la Ciencia en beneficio de la salud Pública (...) a fin de q^e se sirva comunicar con la mayor brevedad posible lo q^e entienda sea capaz de mejorar dichas obras con arreglo a los adelantamientos de la Ciencia...” (15).

La respuesta no deja de extrañar y ofrece una interesante versión del concepto que, sobre su propio trabajo, tiene este grupo profesional:

“Que siendo de su Instituto ciencia y parte mecánica un asunto tan interesante le es precisamente necesario saber para la formación de d^{ha} Farmacopea, una Instrucción de la Medicina y Cirugía, pues constando la Farmacopea de un conjunto de fórmulas, las cuales son pedidas por d^{hos} Profesores de Medicina y Cirugía a estos pertenece privadamente la elección de d^{has} fórmulas, y al Químico Farmacéutico la buena elección de ellas y otros requisitos indisputables concernientes a esta Ciencia. En este supuesto si ese Supremo Consejo mediante su autoridad da á este R^l. Colegio unos datos terminantes sobre q^e fundar sus tareas, como científico, procurara desempeñarlas con el mejor interés y desvelo; en consecuencia trabajara igualmente por el Petitorio. Y en cuanto a la Tarifa expondra lo q^e le parezca conveniente con arreglo a las circunstancias...” (16).

Una situación de subordinación hacia los profesionales de la Medicina, contraria a la actitud deseada por el Real Colegio de Botánicos; la cuarta edición de la *Pharmacopea hispana*, impresa en 1817, lo haría bajo la responsabilidad de la Junta Superior Gubernativa de Farmacia (17).

La reposición, en el verano de 1811, del Real Tribunal del Protomedicato por las Cortes de Cádiz (18) hizo depender este Real Colegio de la restaurada institución y, en la mañana del 12 de septiembre de 1812, una comisión formada por Vicente Sánchez, botánico de Cámara (19), y Francisco de la Rúa, fue recibida, en los locales del propio Real Colegio, por Antonio de la Cruz; el jefe local, Pedro Gutiérrez Bueno, se excusó ‘no pudiendo concurrir por falta de coche’. El acto se limitó a la adscripción oficial del centro docente al Real Tribunal y al levantamiento del inventario de sus pertenencias (20). De nuevo, a finales de éste

septiembre, el Tribunal del Protomedicato volvería a officiar al Real Colegio de Farmacia, esta vez el escrito solicitaba: “una razon del estado en que había quedado este establecimiento y que cada uno de los catedraticos justificara legalmente su conducta política durante la ocupacion de esta capital por los enemigos...” (21); a la que los dos catedráticos, Pedro Gutiérrez Bueno y Antonio de la Cruz, responden de manera esquiva (22); de manera similar lo hacen, en noviembre de 1812, cuando el real Tribunal se interese por la relación de piezas destinadas a la enseñanza de la Farmacia (23).

Aún nos queda noticia de otra actuación de este mermado Real Colegio de Farmacia en 1812; se trata de su respuesta al Gobernador político de Madrid, quien se interesa, en nombre de María Josefa de Leyra, esposa de Patricio Ortiz Herboso, boticario de Cámara, por la situación de la Real Botica, asentada en el Seminario de Nobles (24); el memorial llega de la mano de Antonio Cano Manuel, quien a la sazón ocupaba la Secretaría de Gracia y Justicia en este período de Regencia (25). La respuesta nos muestra, de manera pintiparada, la situación en que se encontraba el Madrid de 1812.

“... tanto la botica como el laboratorio castrense estan ya echos cargo de uno y otro varios Boticarios de camara de los que hay en Madrid, despues de haver precedido el correspondiente inventario mandado hacer por la Junta interina de Hacienda en un principio, y despues por los Boticarios de Camara dⁿ. Fran^{co}. Xavier de la Peña y dⁿ. Agustín Mestre individuos del Protomedicato establecido en Cadiz. La Botica no tiene medicinas para surtir el ex^{to}. por haberselas gastado casi todas los enfermos de la Guardia del Rey. Solo estan moliendo un poco de quina por haber encontrado un poco de este genero que se va para los hosp^s. militares, y asi la pretension de venirse dⁿ. Patricio Ortiz es inoportuna, tanto por estar ya la botica de orden superior al cuidado y custodia de un compañero, como porque no esta en estado de servir al ex^{to}....” (26).

3. EL REAL COLEGIO DE PROFESORES BOTICARIOS

Los boticarios madrileños siguen agrupados en aquel Real Colegio cuyos *Estatutos...* recibieran la aprobación del Consejo Real de Castilla en el agosto de 1737; disponen de casa propia, parcialmente cedida en su uso a la Junta Superior Gubernativa de Farmacia, para que en ella tuviera su residencia temporal el Real Colegio de Farmacia, como ya hemos dejado apuntado.

Las reuniones mensuales a que obligaban los *Estatutos...* habían quedado periclitadas desde tiempos atrás. Desde el mayo de 1811, los miembros de la Junta no volvieron a reunirse hasta el enero de 1812; entonces lo hicieron los cargos directivos para que el tesorero, Silverio Pérez de Cevallos (m. 1822) presentara sus

cuentas del año anterior, dejara constancia del fallecimiento de José Díaz Poblet, quien fuera decano del Colegio, e informara de ello a quien habría de ser su sustituto en el cargo, Casimiro Gómez Ortega (27). Todo parece seguir el sino a que obligan los años de una guerra, durante los cuales las instituciones se mantienen en un estado latente que las hace prácticamente inoperantes.

Una nota, aparentemente banal, en el acta de esta Junta particular de enero de 1812, nos abre una extraordinaria ventana para comprender cómo funcionó, en la vida real, esta corporación farmacéutica; se trata del comunicado de uno sus miembros, Plácido de Briega y Regidor.

Plácido de Briega pertenecía al Real Colegio desde junio de 1777 (28), tuvo farmacia abierta en la plazuela de San Ildefonso y ocupó diversos cargos en la Junta directiva entre 1783 y 1816 (29); entre ellos el de director, al menos en dos periodos (1800-1801 y 1817-1819). El caso es que, en ese enero de 1812, con apenas cincuenta años (30), nuestro boticario atraviesa un periodo de crisis por el reciente fallecimiento de su mujer, Gertrudis Montenegro, y ha decidido ceder la botica a su hija, Josefa de Briega y Montenegro, casada con Diego García Herrero “q^e la esta sirviendo como mando de aquella...” (31). El dato tiene un indudable interés para valorar de manera adecuada el papel que juega la mujer en la profesión farmacéutica; desde luego no la ejerce, pero sí es la propietaria del establecimiento.

El texto nos aporta otra clave más: la carencia de botica no es óbice para dejar de pertenecer al Colegio (32); así nos lo confirma el literal de la propia Junta al presentar éste su cese:

“... teniendo presente q^e algunos yndividuos de este cuerpo han continuado en el aun quando hayan dexado sus Boticas en iguales casos al de Dⁿ. Placido q^e lo ha verificado por su comodidad y descanso; q^e los meritos y servicios de este respecto del Colegio en el puntual desempeño de todos los empleos q^e ha obtenido merecen toda atencion, y lo instruido q^e se halla en los negocios del cuerpo pueden serle muy util, se acordó no admitir la despedida del dho Dⁿ. Placido y si q^e continúe siendo Colegial de numero como hasta aqui sin diferencia, de los demas pero dandose cuenta de ello a la Junta G^{ral}...” (33).

Y el acta de la Junta aún nos depara la noticia de un hecho interesante, que nos muestra, bien a las claras, el carácter gremial con que los boticarios madrileños conciben su ejercicio profesional; en unión a la renuncia -no aceptada- de Plácido de Briega como colegial de número, se presenta el memorial de su yerno, Diego García Herreros, solicitando ser colegial (34); se le admite de inmediato como tal,

“... dispensandole la operación y Disertacion mediante lo q^e por punto general tiene resuelto el Colegio para estos Casos y se ha practicado con los

demás hijos de Boticarios Colegiales de esta Corte sin diferencia alguna vajo la calidad de q^e también se haga presente en Junta general” (35).

Antes de que se reuniera la Junta general que habría de aprobar estas decisiones, hubo de hacerlo, de nuevo, la junta particular, el 20 de enero de 1812, para dar trámite a un oficio del, entonces recién creado, Supremo Consejo de Sanidad (36) remitido un par de días atrás por su secretario, Juan de Dios Torres:

“Deseoso el Consejo Supremo de Sanidad en desempeño de su instituto de promover en general los progresos de la Pharmacia, y en particular los de ese R^l. Colegio de Profesores Boticarios de Madrid, cuya cooperacion tanto puede influir en unos y otros; ha acordado oír personalmente por medio de una Diputacion del Colegio el día treinta de este mes a las diez en punto de la mañana, s^{re} el objeto indicado, y señaladamente sobre los abusos q^e se experimentan de parte de los Drogueros con imponderable perjuicio de los Boticarios y de la Salud Publica; y acerca de los medios de continuar las elaboraciones comercio e intereses del cuerpo y la mas conveniente instrucción de sus practicante (...) En Madrid 18 de Enero de 1812” (37).

El oficio, aparte del reconocimiento explícito del carácter centralista con que sigue juzgándose a la organización profesional, nos añadirá un nuevo dato de interés: la Junta acuerda que, para la convocatoria, “se repartiesen las esquelas correspondientes a todos los Colegiales a los q^e no lo son y a los Regentes...” (38); en definitiva, la organización colegial actúa como representante de los boticarios en la interlocución con las estructuras sanitarias, pero no todos los ejercientes pertenecen al Colegio.

De lo acontecido en la visita de la comisión del Supremo Consejo de Sanidad también disponemos de datos: a las 10 de la mañana del 30 de enero de éste 1812, se presentó en el domicilio del Real Colegio, en la calle Atocha, el grueso del Consejo de Sanidad: Juan Bautista Soldevilla, médico de Cámara; Leonardo Galli, segundo cirujano de Cámara; Castor Ruiz del Cerro, Francisco Trifón Fernández y Vicente Sánchez, boticarios de Cámara; y Juan de Dios Tormes, secretario del Consejo; salió a recibirlos la Junta particular “con las ceremonias de costumbre en semejantes actos y habiendo entrado en la Sala de Juntas del Consejo tomo los asientos de preeminencia y después ocuparon los suyos los S^{res}. Colegiales y demás citados...”. El objeto de tan protocolaria visita es conocer la opinión de los boticarios madrileños, sobre los cinco grandes problemas por los que atraviesa la profesión en estos años:

“1^o Medios p^a q^e los Drogueros no vendan generos medicinales por menor, y de ningún modo los compuestos.

2^o Para que se fomente el almacen de generos en el Colegio donde puedan proveerse los profesores de Madrid y los de fuera.

3º. Sobre la asistencia de los practicantes a la enseñanza.

4º. Sobre la continuacion de los Boticarios de Camara como colegiales natos.

5º Sobre la fabricacion de la triaca conforme a lo dispuesto, y anteriormente practicado..." (39).

El Colegio reunió a los boticarios en junta general pocos días después, el 13 de febrero, tan sólo quince personas acudieron a la llamada, en ella se aprobaron los acuerdos de la anterior junta particular y se eligió a la comisión que, en nombre del Colegio de Boticarios habría de redactar el informe: Asensio García Ordóñez, el director de la Corporación; Casimiro Gómez Ortega, su colegial decano; y los colegiales Placido de Briega Regidor, Vicente Rodríguez, Francisco Villegas y Fermín Sessé

"... para q^e asociados conferenciasen y acordasen quanto hallasen p^r. combeniente exponer sobre dichos puntos; y q^e pudiese el s^r. Director convocar á quantos Boticarios de Madrid tubiese por combeniente fuesen, o no Colegiales, para que cada uno manifestase su dictamen..." (40).

Casimiro Gómez Ortega, cada vez más distanciado de sus compañeros de profesión (41), rehusó participar en esta comisión, por lo que fue sustituido por el secretario de la Corporación, José Sánchez (42). No volverá a celebrarse nueva reunión colegial durante éste 1812 (43).

Y no fue porque el Supremo Consejo de Sanidad no solicitara la participación de los boticarios madrileños en sus trabajos; en oficio de 7 de febrero de éste 1812, firmado por su secretario, Juan de Dios Tormes, comunica al Colegio su acuerdo de que:

"... se imprima y publique una lista de los profesores de los tres ramos de la ciencia de curar que han acreditado con la exhibicion de sus títulos en el Consejo q^e pueden exercer su respectiva profesion en Madrid; y que en ellas se distingan por articulo separado los individuos de ese R^l. Colegio, á cuyo efecto me ha mandado d^{ho} Consejo pasar á V. oficio como lo executo, a fin de que se sirva dirigirme lista de todos ellos con expresion de la antigüedad de su revalidacion, de las señas de sus habitaciones, y de si tienen algun distintivo ó decoracion q^e deseen convenga ó denote en dha lista, como si son de la Academia Medica Matritense, &..." (44).

Nuevo testimonio que corrobora la colegiación como un elemento "para adquirir (...) Honores y Luces", no como una exigencia para la práctica profesional.

Y pocos días después, el 29 de éste febrero de 1812, un oficio de Antonio de Gimbernat, con el visto de Juan de Dios Fornés, solicitando la colaboración colegial para redactar una nueva Farmacopea, una nueva Tarifa y un nuevo Petitorio (45).

A nada de ello respondieron los colegiales madrileños, quizás conscientes ya de los cambios administrativos que la nueva Constitución de 1812 habría de depararles, quizás exhaustos por las penosas condiciones que la situación de guerra les hacía vivir.

En cualquier caso, no se trata de un Colegio económicamente empobrecido; todo lo contrario, ha sabido organizar bien su economía y es capaz de sobrevivir con sus propias rentas, concretamente de unos vales reales adquiridos y de la venta de sus producciones: triaca, aceite de almendras amargas y otros productos de su almacén, sin requerir de la contribución de sus colegiados.

El balance económico de este año de 1812 fue positivo para el Real Colegio; tras realizar los pagos correspondientes, ingresaron en sus arcas, de acuerdo con los datos proporcionados por su tesorero y contador, 29.989 r^s. 17 m^s. (63).

Gastos efectuados por Real Colegio de Boticarios de Madrid en 1812	
Nómina del criado [José Ribas] (50)	2.196 r ^s . 00 m ^s .
Adelanto de sueldo para el criado [José Ribas] (51)	188 r ^s . 00 m ^s .
Adquisición de útiles para el Colegio [José Ribas] (52)	167 r ^s . 00 m ^s .
Reparaciones y obras de albañilería [Juan Pavón] (53)	1.121 r ^s . 06 m ^s .
Carga del aposento [1811]. [Ayuntamiento de Madrid] (54)	121 r ^s . 12 m ^s .
Sereno y farol [1811 y 1812] (55)	192 r ^s . 00 m ^s .
Gastos de capellanía [Francisco Antonio de Cárcel] (56)	2.200 r ^s . 00 m ^s .
Papel e impresión de papel membretado [Miguel Burgos] (57)	40 r ^s . 00 m ^s .
Retoque en el escudo de armas [Lázaro Martínez] (58)	60 r ^s . 00 m ^s .
Sello de madera para la triaca [Francisco Mollera] (59)	60 r ^s . 00 m ^s .
Impresión de etiquetas para la triaca [Mateo Repullés] (60)	296 r ^s . 00 m ^s .
Botes para triaca y material de plomería [José Mariscal] (61)	2.149 r ^s . 26 m ^s .
Material para el almacén colegial [José Ribas] (62)	51 r ^s . 24 m ^s .
Gastos extraordinarios	491 r ^s . 00 m ^s .
Total	9.334 r ^s . 00 m ^s .

Cargos correspondientes al Real Colegio de Boticarios de Madrid en 1812	
Réditos de vales reales (46)	14.133 r ^s . 17 m ^s .
Efectivo de balances anteriores	10.089 r ^s . 00 m ^s .
Venta de triaca (47)	13.662 r ^s . 00 m ^s .
Venta de aceite de almendras amargas (48)	600 r ^s . 00 m ^s .
Ventas del almacén	239 r ^s . 00 m ^s .
Total	38.723 r ^s . 17 m ^s . (49)

4. LA CONGREGACIÓN DE NUESTRA SEÑORA DE LOS DESAMPARADOS Y SAN LUCAS EVANGELISTA

Durante todo el periodo ilustrado, la vida profesional del Real Colegio de Boticarios de Madrid estuvo estrechamente ligada a la de una cofradía de carácter religioso y benéfico-asistencial, asentada en una capilla sita en el camposanto del Hospital de la Pasión: la Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y San Lucas Evangelista (64). En 1812, la vida cotidiana de esta agrupación también se nos presenta crítica: sus congregantes no se reunieron una sola vez, no tuvieron dónde hacerlo; en mayo de 1811 la junta general determinó, ante la presión de la Comisión de Hospitales, el derribo de la capilla (65); sus enseres fueron trasladados a la sede del Real Colegio de Boticarios, donde el contador, Gregorio Romero, se ocupó de su liquidación.

El grueso de los bienes: casullas, paños de cáliz, frontales de altar, bolsas de corporales, manípulos, estolas, aras, pilas para el agua bendita, bancos, una custodia de metal dorado y un sinfín más de objetos litúrgicos esperaron a ser vendidos hasta comienzos de noviembre de 1817, a un precio bastante bajo; de su venta se hizo cargo Plácido de Briega, quien a la sazón dirigía el Real Colegio de Boticarios (66).

El balance contable de la Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados correspondiente a 1812 también nos es conocido, aunque de forma fraccionaria (67). El mantenimiento de la agrupación quedaba apuntalado por las cuotas de los socios congregantes, un total de 22 en el año de 1812. Los gastos son los propios de una hermandad piadosa: las misas de difuntos (dos docenas parece la cantidad habitual), hábito (tasado en 66 r^s.) y acompañamiento en el entierro, cubiertos en su totalidad para los congregantes y sus mujeres, siempre que estuvieran al corriente de pago, y en una mitad para los regentes e hijos políticos.

Cargos correspondientes a la Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y San Juan Evangelista en 1812

Contribución de los congregantes (68)	528 r ^s . 00 m ^s .
--	--

Gastos efectuados por la Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y San Juan Evangelista en 1812

Gratificaciones al criado 1812 [José Ruiz] (69)	100 r ^s . 00 m ^s .
Cobertura del deceso de María Nicolasa Herrera (70)	162 r ^s . 00 m ^s .
Cobertura del deceso de Andrés Gonzalo (71)	81 r ^s . 00 m ^s .
Cobertura del deceso de José Sánchez (72)	158 r ^s . 00 m ^s .
Cobertura del deceso de Joaquín Pinto (73)	81 r ^s . 00 m ^s .
Cobertura del deceso de Nicolasa de Barañano (74)	243 r ^s . 00 m ^s .
Compra de cera (75)	326 r ^s . 17 m ^s .
Deuda estimada (76)	2.574 r ^s . 17 m ^s .
Total	3.726 r ^s . 00 m ^s .

La Cofradía presenta un déficit acumulado de años anteriores, difícil de salvar pese a la reducción de gastos que supone no disponer ya de sede canónica propia, que el tesorero de la Hermandad, Silverio Pérez, estima en 2.670 r^s. en el momento de presentar sus cuentas. Es el canto de cisne de una estructura barroca que, pese a los cambios ilustrados, languidecía sin solución de continuidad; seguiría en este estado de flaqueza hasta noviembre de 1834, en que la Congregación fue disuelta.

La asistencial mutual y benéfica de los boticarios, que hasta la entrada del XIX, venía siendo garantizada por la Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y San Lucas Evangelista tomó nueva senda tras la constitución, entrada la década de 1840, de otra entidad mutual: la Sociedad Farmacéutica de Socorros Mutuos, de carácter nacional y alejada de los planteamientos religiosos que caracterizan a las cofradías.

5. COLOFÓN

Las Cortes de Cádiz restablecieron las antiguas estructuras borbónicas de control profesional; de nuevo el Real Tribunal del Protomedicato volvió 'legalmente' a ocuparse de las funciones que, durante los primeros años del siglo

XIX, fueran competencia de la centralista y 'absolutista' Real Junta Superior Gubernativa de Farmacia, quien siguió ejerciendo sus funciones desde la Corte madrileña, mientras el Real Tribunal lo hacía dese Cádiz (77). Fernando VII dispuso, el 11 de septiembre de 1814 que el Real Tribunal del Protomedicato quedase suprimido; realmente lo estaba 'de facto', no sólo por la merma que la propia Constitución liberal de Cádiz había realizado en la mayor parte de sus atribuciones, sino porque la Real Junta Superior Gubernativa supo mantenerse, aún en los más duros períodos liberales y pese a su nula representatividad, como la estructura que condujo a la profesión farmacéutica a un reconocimiento social y profesional añorado durante siglos (78).

6. REFERENCIAS

1. "Se ha fijado la cifra de fallecidos a causa del hambre en veinte mil, entre septiembre de 1811 y julio de 1812, cifra que habría que justificar en los archivos de las parroquias madrileñas pero que no debe andar muy errada" (Espadas Burgos, M. El hambre de 1812 en Madrid. *Hispania* **110**, 594-624 (1968). Sobre la situación de la ciudad de Madrid en 1812 cf. Jiménez de Gregorio, F. La Villa de Madrid en la Guerra por la Independencia: dos sucesos en el año 1812. *Anales del Instituto de Estudios Madrileños* **21**, 435-447 (1984), Jiménez de Gregorio, F. La provincia de Madrid en la guerra de Independencia: sus pueblos juran la constitución de 1812. *Anales del Instituto de Estudios Madrileños* **36**, 625-642 (1996); Jiménez de Gregorio, F. Madrid: Guerra y Revolución. *Anales del Instituto de Estudios Madrileños* **48**, 223-226 (2008).
2. Juan Palarea y Blanes (1780-1842), tras la entrada en Madrid tomó parte en la batalla de Arapiles, entorpeciendo las comunicaciones del francés Marmont; fue nombrado gobernador de Toledo, allí proclamaba la Constitución el día 25 de septiembre de éste 1812.
3. Quizás uno de los químicos españoles de mayor prestigio; al menos en tal consideración le tuvo Louis Proust: "el primero que ha establecido en grande los trabajos de la química práctica [en Madrid] con un éxito de dignos elogios" (Proust, L. Sobre la piedra filosofal de Extremadura... *Anales de Historia Natural* **1(2)**, 127-135 (1799). Pedro Gutiérrez Bueno fue catedrático de Química en el Real Colegio de San Carlos (1801-1804), en el de Botánicos de Madrid (1806-1815) y en el Real Laboratorio de Química de Madrid, Boticario mayor honorario del Rey (1792), miembro de las Reales Academias de Medicina de Madrid (1780) y Sevilla (1794) y de las de Ciencias y Artes (1788) y Médica-Práctica de Barcelona (1780) y Alcalde Examinador de Farmacia (1791); datos biográficos en Carrasco Jarabo, P. Vida y obra de Pedro Gutiérrez Bueno. *Boletín de la Sociedad Española de Historia de la Farmacia* **15(60)**, 154-169; **16(61)**, 10-24; **16(62)**, 71-86; **16(63)**, 101-118; **16(64)**, 153-177 (1964-1965); García Belmar, A.; Bertomeu Sánchez, J.R. Pedro Gutiérrez Bueno (1745-1822), los libros de texto y los nuevos públicos de la química en el último tercio del siglo XVIII. *Dynamis* **21**, 351-374 (2001); García Belmar, A.; Bertomeu Sánchez, J.R. Pedro Gutiérrez Bueno (1745-1822) y las relaciones entre la química y la farmacia durante el último tercio del siglo XVIII. *Hispania* **61**, 539-562 (2001); Riera Palmero, J.B. Pedro Gutiérrez Bueno, química y farmacia en la España ilustrada. In *Historia de las ciencias y de las técnicas [VIII Congreso SEHCYT]*, Escribano Benito, J.J.; Español González, L.; Martínez García, M.A., Eds. Logroño, Universidad de la Rioja, 2004; vol. 2, p. 735-738; Bertomeu Sánchez, J.R.; Rosa Muñoz Bello, R. Azoto y sulfureto. Debates y propuestas en torno a la terminología química durante la primera mitad del Siglo XIX. *Revista de investigación lingüística* **13(1)**, 241-268 (2010).
4. "Y declaro que no he recibido de dicha mi muger D^a Josefa Aguado cuando con ella contrajo mi matrimonio mas bienes y efectos algunos (...) los sacó al salir de ella y condujo a una habitación que vive y siempre conserva (...) Y declaro que habiendo dado mi mujer tantas

y tan repetidas pruebas de su genio díscolo, no se le permita intervenir en los Inventarios ni que entre en la casa después de mi fallecimiento (...) y suplico á los señores Jueces de esta Corte amparen y protejan á los testamentarios para que la expresada mi mujer no los inquiete ni perturbe de modo alguno en sus operaciones...” Testamento de Pedro Gutiérrez Bueno, protocolizado ante el notario Raimundo Gálvez. Madrid, 23-IX-1818 (Archivo Histórico de Protocolos de Madrid, protocolo 13.517 –*fide* Carrasco Jarabo, P. *Op. cit. ut supra*, **16(64)**: 172-175-).

5. “Ante el Sr. D. Juan de Dios Alonso, ministro del tribunal de Apelaciones y Vigilancia, se están practicando diligencias de purificación de Don Pedro Gutiérrez Bueno, catedrático del real colegio de farmacia química (...) Las personas que tuvieran que exponer acerca de la conducta política de estos interesados, lo podrá hacer ante los referidos señores jueces, en el término de 9 días, contados desde el 5 del presente mes”. Diario de Madrid [sábado 5-X-1812], **282**, 437).
6. Sobre el proceso *cf.* “Información judicial justificando D. Pedro Gutiérrez Bueno su conducta patriótica durante la dominación de los Franceses en Madrid” (Archivo General de Palacio, leg. 490, exp. 26 –*fide* García Belmar, A.; Bertomeu Sánchez, J.R. *Op. cit. ut supra*), actuaron como testigos el presbítero Julián Melón y Pedro Muro, agente de negocios.
7. Su nombre figura en la *Lista interina entre tanto que se publican otras documentos: de los informantes contra las víctimas de la noche 9 al 10 de mayo de 1814*. Sevilla, Imprenta de López, 1820: “D. Plácido Briega y Regidor, viudo, hacendado en Madrid, edad 68 años, plazuela de san Ildefonso casa de botica” (*cf.* p. 6).
8. El 31 de julio de 1805, en contestación a una Real Orden de 7 de julio, Casimiro Gómez Ortega, Pedro Gutiérrez Bueno, Juan Manuel Pérez, José Albarrán, Martín Sessé, Plácido de Briega e Hipólito Ruiz, firman un “Informe de los facultativos sobre las experiencias que habían hecho para averiguar el efecto de las fumigaciones de Morveau en las personas, géneros y metales que se expusieron á ellas”. In *Memoria sobre las disposiciones tomadas por el gobierno para introducir en España el método de fumigar y purificar la atmósfera de Guiton De Morveau*. Madrid, Imprenta Real, 1805, p. 37-40.
9. Diario de Madrid [miércoles 11-XI-1812] **315**, 575.
10. “Un jóven soltero desea entrar en una casa decente para enseñar á algunos niños los idiomas latino, español y frances, y qualquier otro ramo de literatura, geografía, poesía, historia, elocuencia y demas concernientes á una lucida y perfecta educacion. Irá tambien á enseñar el frances á la casa que se le señale. Quien quisiere servirse de él dexará la noticia en la primera botica de la calle de Hortaleza, entrando por la red de san Luis á mano izquierda, propia de D. Benito Calonge”. Diario de Madrid [viernes 17-VII-1812] **197**, 67.
11. “Un jóven de buena educacion, y con personas de carácter que le abonen, desea colocarse en clase de mayordomo ó ayuda de camara: se halla instruido en el manejo de papeles, y afeita y peina con perfeccion. Darán noticia en la botica de D. Silverio, plazuela de Anton Martín, enfrente de san Juan de Dios”. Diario de Madrid [viernes 28-VIII-1812] **253**, 236.
12. “Una jóven de edad de 28 años, que sabe guisar, coser y planchar, desea colocarse en una casa decente dentro ó fuera de Madrid, aunque sea por la mitad del salario: tiene personas de carácter que abonen su conducta. Darán razon en la botica de la calle de Alcalá”. Diario de Madrid [miércoles 25-XI-1812] **329**, 634.
13. Esta institución fue estudiada por Folch Jou, G. *El Real Colegio de Farmacia de San Fernando*. Madrid, Instituto de España, 1977.
14. A lo largo de 1812, todas las juntas del Real Colegio tuvieron lugar en el domicilio de Pedro Gutiérrez Bueno “por indisposición de este” (*cf.* Junta ordinaria, 4-III-1812; Junta extraordinaria, 23-IX-1812; *Ibid.*, 26-IX-1812; 12-X-1812; *Ibid.*, 26-XI-1812. *Libro de Acuerdos del Real Colegio de Farmacia de Madrid, que da principio en el Establecimiento verificado en Mayo de 1806 [-1823]* Archivo Central de la Universidad Complutense de Madrid [AC-UCM], leg. 134/10-55, fols. 213v-215r).

15. El oficio queda firmado, en Madrid, a 29-II-1812; para su respuesta se reunió la Junta ordinaria, con fecha de 4-III-1812 (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fol. 214r).
16. La respuesta, de la que conocemos el borrador incluido en el *Libro de Acuerdos...*, queda fechada en Madrid, a 6-III-1812 (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fol. 214v).
17. *Pharmacopea hispana. Editio quarta*. Matriti, apud M. Repullés, 1817.
18. En el *Libro de Acuerdos...* se hace mención expresa del “Protomedicato establecido en Cádiz por Decreto de las Cortes extraordinarias de 22 de Julio y 21 de septiembre de 1811...” (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fol. 214v).
19. Vicente Sánchez ingresó como Boticario de Cámara de segunda clase en 1789; por Real Orden de 13 de octubre de 1800 fue destinado al Hospital del Ejército en Galicia; ascendió a boticario de Cámara de primera clase tras el fallecimiento de Luis Blet, en marzo de 1808. (Valverde Ruiz, E. *La Real Botica en el siglo XIX*. [Tesis doctoral, dirigida por M^a Esther Alegre Pérez]. Madrid, UCM, 1999).
20. A la hora y día mencionado se presentaron Vicente Sánchez y el secretario de la comisión, Francisco de la Rúa y “este manifiesto el establecimiento del Protomedicato en la forma ya expresada, de lo qual quedo enterado el Colegio y reconocido por Gefe al Protomedicato despues de haverse visto los catedraticos en la Junta de ese dia, y en la qual se recibio otro oficio de la Junta de comision, y firmado por su Secretario Rua, y en el qual se expresaba que dⁿ. Vicente Sanchez Boticario de Camara y vocal de la dicha Junta de comision, y dⁿ. Fran^{co} de la Rua, secretario de ella estaban comisionados para hacer el inventario de aquel Colegio, a lo qual accedio y acordó se diese el debido cumplimiento y se paso a la execusion y conclusiones y no habiendo ocurrido otra cosa se disolvio la Junta tenida en casa del Gefe local por indisposicion de este” (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fol. 214v).
21. El escrito, fechado el 25 de septiembre, motivó una junta extraordinaria, reunida el 26-IX-1812, “en casa del Gefe local por indisposicion de este”. (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fols. 214v-215r).
22. “... acuerdo este Colegio en su Junta del dia de hoy 28 [de septiembre de 1812] decir a VS para que informe al tribunal que en quanto al estado del establecimiento se remiten al inventario que de orden del mismo tribunal se ha hecho por la Junta de comision nombrada por el, y a quien se le ha manifestado todos los pormenores; y en quanto a la justificacion esta ya puesta en practica, y concluida que esté, se remitira con la mayor brevedad, según exige ese tribunal”; el escrito de contestación queda fechado, en Madrid, a 8-X-1812. (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fol. 215r). Será ésta la última de las reuniones habidas en 1812; la siguiente junta se celebrará el 21 de junio de 1813.
23. El testimonio en la Junta extraordinaria del 26-XI-1812, reunida “para dar cumplimiento a una orden que tiene del Protomedicato Supremo de Salud Pública [que] necesita que el Colegio le remita una nota exacta de los articulos pertenecientes a la enseñanza que existen en el R^l. Colegio de farmacia: en vista de lo cual este Colegio acuerdo contestar en los terminos siguientes: Al oficio que con f^{na} de 30 de oct^{bre} (...) el mismo colegio ha acordado (...) decir a VS que todos los articulos que constan en el inventario son para la enseñanza, y que estando este echo en el existen todos los que hay ...” (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fols. 215v-216r).
24. En 1808 figura entre los boticarios de Cámara de tercera clase, al servicio del Cuerpo de Farmacia Militar; en 1809 sería destinado al Ejército de Extremadura, como primer boticario; en 1810 sirve en el ‘Ejército de la Derecha’ y en 1811 en el Ejército de Cataluña, donde continuaría en 1814 (Navarro Gallo, J.A. La Farmacia militar española durante la Guerra de la Independencia. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, **75(E)**, 593-612 (2009). El 15-VII-1814 firma, en Barcelona, un escrito como ‘boticario de Cámara de S.M., mayor del primer ejército y presidente de la Subdelegación de Farmacia en este Principado [de Cataluña]’ (Cf. *Representacion y documentos entregados á S.M. en propia mano la noche del dia 29 de abril de 1820, por el amante verdadero del rey ó por el doctor don José Antonio Oñez., gefe que ha sido del ramo de Farmacia del tercer ejército, despues segundo ayudante de la real Botica de S.M., y boticario en la calle de Postas, ó, Nuevas*

- indicaciones acerca de la conducta política de don Agustín José Mestre, boticario mayor de S.M. Madrid, Imprenta de I. Sancha, 1820, p. 15). En 1816 residirá en Madrid, el *Kalendarario manual y guía de forasteros en Madrid, para el año 1816* (Madrid, Imprenta Real, 1816), le incluye entre los miembros de la Real Junta Superior Gubernativa de Farmacia, como 'Primer Boticario de Cámara' (cf. p. 101).*
25. Antonio Cano Manuel y Ramírez de Arellano (1768-1836) fue nombrado Secretario de Despacho de Gracia y Justicia el 23 de junio de 1812, ocupó el cargo hasta el 10 de octubre de 1813. Presidió las Cortes en 1821 y el Tribunal Supremo de España entre 1820 y 1823.
 26. El escrito, fechado en Madrid, a 15-X-1812, se incluye como parte del acta de la Junta extraordinaria de 12-X-1812, en que fue redactado (*Libro de Acuerdos...* AC-UCM, leg. 134/10-55, fol. 215v).
 27. "... q^e por mi el Sr. Sr^o se le pasase un oficio á el Sr. Dⁿ. Casimiro Gomez Ortega nombrandole como tal decano q^e por antigüedad le toca el q^e se verifico y a el q^e contesto dando gracias por el nombramiento". Junta particular de 14-I-1812. ARANF, L-12 [*Libro que Contiene los Acuerdos que hace el R^l. Colegio Pharmaceutico de Madrid en las Juntas que celbr^a desde primero de Marzo de 1795 en su casa propia calle de Atocha n^o 3 manz^a 255*] [hasta el 12 de noviembre de 1836], fols. 205r-206r.
 28. Probablemente alguno de los manuscritos conservados en la biblioteca de la Real Academia Nacional de Farmacia se corresponda con su ejercicio de entrada a la Corporación, acaecida el 10 de junio de 1777: Briega y Regidor, P. *Disertación sobre el galvano*. [Madrid], [Manuscrito], [1777], [6 h.]. [RANF, signatura: B-18-64]; Briega y Regidor, P. *Disertación sobre el arcano duplicado*. [Madrid], [Manuscrito], [1777], [2] h. [RANF, signatura: B-18-65].
 29. Ocupó los cargos de secretario primero (1783-1785), diputado primero (1790-1791), contador (1796-1797), diputado primero (1798), director (1800-1801), fiscal (1807, 1808, 1816) y, nuevamente, director (1817, 1818, 1819) (Roldán Guerrero.R. *Diccionario biográfico y bibliográfico de autores farmacéuticos españoles*. Madrid, Imprenta del P.H.O.E., 1963; vol. 1, p. 25-26).
 30. Deducimos su edad del comentario incluido en la *Lista interina entre tanto que se publican otras documentos: de los informantes contra las víctimas de la noche 9 al 10 de mayo de 1814*. Sevilla, Imprenta de López, 1820: "D. Plácido Briega y Regidor, viudo, hacendado en Madrid, edad 68 años, plazuela de san Ildefonso casa de botica" (cf. p. 6).
 31. Junta particular de 14-I-1812. ARANF, L-12, fols. 205r-206r.
 32. "... y que faltandole las circunstancias de tener Botica propia no devia continuar siendo Colegial de numero por cuya causa se despedia del Colegio...". Junta particular de 14-I-1812. ARANF, L-12, fols. 205r-206r.
 33. Junta particular de 14-I-1812. ARANF, L-12, fols. 205r-206r.
 34. Diego García Herreros, "Boticario aprobado, y con Botica propia en esta Corte" desea incorporarse al Colegio "para adquirir de el los Honores y Luces q^e le son característicos, y contribuir por su parte al bien del mismo Colegio en quanto le sea compatible...". Nota al margen de José Sánchez, secretario, 17-I-1812; "pase á D. Silverio Perez p^a informar, habiendosele avilitado como fiscal en este caso, por ser el Pretendiente Yerno del Actual Fiscal Dⁿ. Placido Briega y Regidor." Nota al margen: Silverio Pérez, fiscal habilitado. Madrid, 22-I-1812. "No me ofrece reparo en la admision de este sujeto bajo las mismas circunstancias y como hijo de Profesor...". Carta de Diego García Herreros al Colegio de Boticarios de Madrid. Madrid, 17-I-1812 (ARANF, leg. 31.2.1).
 35. Junta particular de 14-I-1812. ARANF, L-12, fols. 205r-206r. Placido de Briega seguiría vinculado a su Colegio de boticarios durante los muchos años que se mantuvo con vida; incluso volvería a dirigir la Corporación entre 1817 y 1819, fallecería en enero de 1830, después de ejercer como catedrático del Real Colegio de Farmacia de San Fernando, cuya dirección también desempeñó.
 36. Este Consejo Supremo de Sanidad Pública fue establecido por Real Decreto de 18-X-1811; en él se reunían las anteriores Juntas Superiores Gubernativas de Medicina, Cirugía y

Farmacia y se agrupaban todas sus funciones (cf. Puerto Sarmiento, F.J. La Ciencia durante la Ilustración y la Guerra de la Independencia. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, **75(E)**, 527-576 (2009).

37. El oficio, firmado en Madrid, a 18-I-1812, fue transcrito en el acta de la Junta particular de 20-I-1812. (ARANF, L-12, fols. 206r-206v); el original del que fue tomado se conserva en ARANF, leg. 31.1.3.
38. Junta particular de 20-I-1812 (ARANF, L-12, fols. 206r-206v).
39. El secretario del Real Colegio, José Sánchez, lo dejó anotado en el Libro de actas de la Corporación (ARANF, L-12, fols. 206v-207r).
40. Junta general de 13-II-1812 (ARANF, L-12, fols. 207v-208r).
41. En diciembre de 1811 había solicitado su cambio de sección en la Real Academia Médica Matritense, abandonando la de Farmacia e integrándose en la de Medicina (Puerto Sarmiento, F.J. *Ciencia de cámara: Casimiro Gómez Ortega (1741-1818), el científico cortesano*. Madrid, CSIC, 1992).
42. Junta particular de 26-II-1812 (ARANF, L-12, fols. 208r-208v); en ella comenzaron a debatirse las contestaciones que habrían de conformar el escrito dirigido al Supremo Consejo de Sanidad.
43. El siguiente acta corresponde a una Junta particular de 20-II-1813 (ARANF, L-12, fol. 208v), limitada a la presentación de cuentas correspondientes a 1812, que realiza el tesorero y que pasan a manos del contador para su estudio.
44. Oficio de Juan de Dios Fornés, secretario del Gobierno del Consejo Superior de Sanidad, al director del Real Colegio de Boticarios de Madrid. Madrid, 7-II-1812. (ARANF, leg. 31.1.2).
45. “Ha determinado el Consejo Supremo de Sanidad publica proveer á la necesidad que hay de una nueva Pharmacopea de Tarifa y Petitorio con las mejoras de q^e son susceptibles estos trabajos. Para que así se verifique, y esperando que ese R^l. Colegio de cuya ilustracion esta bien penetrado el Consejo propendera á esta idea por el honor de la Ciencia y en beneficio de la salud publica, ha acordado pasar á V.S. este oficio a fin de que se sirva comunicar con la mayor brevedad que le sea posible, lo que entienda sea capaz de mejorar d^{has} obras con arreglo á los adelantamientos de la Ciencia”. Oficio de Antonio de Gimbernat, con el visto de Juan de Dios Fornés, secretario de Gobierno, al Secretario del Real Colegio de Boticarios de Madrid. Madrid, 29-II-1812. Al margen, vocales: Gimbernat, Galli, Soldevilla, Fernández, Lavadure, Conde, Luzurriaga, García Suelto, Ortega, Ruiz del Cerro y Sánchez (ARANF, leg. 31.3.1).
46. “Me hago cargo por pri^a partida de cinco vales (...) q^e con los reditos devengados en quatro años, y quatro meses ascienden a 13.231 r^s. / Y de un libram^{to} de dhos vales, 902 r^s. 17 m^s.”, señala Silverio Pérez en el balance contable correspondiente a éste 1812 (ARANF, leg. 30.6.1).
47. Se ocupaba de llevar su control el criado del Real Colegio, José Ribas; se conservan ocho recibos justificativos de las ventas realizadas, por él, a varios colegiales y ‘a un particular’: 54 r^s. (Madrid, 29-II-1812), 162 r^s. (Madrid, 31-V-1812), 54 r^s. (Madrid, 3-VI-1812), 243 r^s. (Madrid, 31-VI-1812), 198 r^s. (Madrid, 31-VIII-1812), 306 r^s. (Madrid, 30-IX-1812), 236 r^s. (Madrid, 31-X-1812), 63 r^s. (Madrid, 31-XII-1812), lo que supone un total de 73 libras. El precio de la triaca vendida a los colegiales se establece en 18r^s./libra; en una ocasión (Madrid, 31-X-1812), la venta de triaca se realizó ‘a un particular’, su precio fue, entonces, de 20 r^s./libra. Aun cuando sólo quedan justificadas 73 libras, durante el año 1812 salieron de los almacenes del Real Colegio más de 700 libras de triaca; las cuentas gestionadas por Silverio Pérez señalan: “Es cargo (...) nuebecientas noventa y quatro t^{ts} y media de triaca, incluso las que me quedaron de existencia que fueron 67. De estas se han vendido setecienta cincuenta y nueve, quedando sin vender, y por existencia, doscientas treinta y cinco t^{ts} y media” y, a reglón seguido anota: “Las setecientas y nueve [sic] á 18 r^s. / 12.762 r^s.”, lo que evidencia una ‘perdida’ no justificada de 50 libras de triaca (ARANF, leg. 30.6.1).

- José Ribas también se ocupaba de adquirir algún material para el envasado de la triaca, labor que estaba bajo su responsabilidad, así lo ponen de manifiesto un par de escritos firmados este año: el primero, por 59 r^s. fechado en 31-V-1802, justificativo de una libra de hilo para botes (22 r^s), una libra de cera (17 r^s), cuatro guatas de pez para los botes (8 r^s); estera y estera de verano (12 r^s); el segundo, de fecha 31-VI-1812, por un total de 39 r^s., por la adquisición de una libra de cera (15 r^s), dos cañas de laca para los botes (5 r^s); pez (7 r^s) y media libra de hilo para los botes (12 r^s); en total, 39 r^s. Madrid, 31-VI-1812 (ARANF, leg. 30.6.1). A la par se ocupaba de la compra de otros enseres (*cf.* escrito justificativo de la compra de estereras de invierno y verano (12 r^s) y una escoba (2 r^s). Madrid, 31-XII-1812. ARANF, leg. 30.6.1).
48. Debía de ocuparse de ello el diputado José Barba; en el balance efectuado por Silverio Pérez, correspondiente a éste 1812, se anota: “Es cargo Seiscientos r^s. recibidos del Dep^{do}. Dⁿ. Josef Barba, producidos de la venta de Aceite de Almendras Dulces...” (ARANF, leg. 30.6.1).
49. Un error en la suma, lleva al tesorero a suponer la cantidad de 38.323 r^s. 17 m^s. (ARANF, leg. 30.6.1).
50. Escrito de Asensio García, director del Colegio, autorizando a Silverio Pérez, tesorero, el pago de 186 r^s. a José Arribas, criado del Colegio, por el mes de enero. Madrid, Madrid, 3-II-1812; con las firmas de José Sánchez [secretario], Asensio García [director], Gregorio Romero [contador] y José Ribas. En términos similares quedan firmadas las nóminas de marzo (31-III-1812), mayo (1-VI-1812), julio (31-VII-1812), agosto (2-IX-1812), octubre (1-XI-1812) y diciembre (31-XII-1812); en febrero la nómina resultó ser de 174 r^s.; y durante los meses de abril (1-V-1812), junio (30-VI-1812), septiembre (1-X-1812) y noviembre (30-XI-1812), el salario a devengar se establece en 180 r^s. Las nóminas posteriores a junio de 1812 llevan la firma de Antonio Ginaud como secretario. El salario se fija en 6 r^s./día, pagaderos a mes vencido (ARANF, leg. 30.6.1).
51. La mesada de adelanto se entrega a raíz de un escrito de José Ribas, remitido al Real Colegio de Boticarios. Madrid, 28-X-1812: “Hace 20 años tiene el honor de servir, á V.S. y en el dia se halla con suma indigencia, sin tener ya cosa q^e vender y muchos sin poder comprar una libra de Pan, por su mucha carestia de todo. (...) Supp^a de V.S. le socorran con lo que sea de su agrado...” (ARANF, leg. 30.6.1). La Junta directiva del Colegio, en sesión de 29-X-1812, acuerda anticiparle una “mesada del embotamiento de la triaca”, hasta conocer el dictamen de la junta general.
52. No consta justificación específica; en el balance compilado por el tesorero, Silverio Pérez, sólo se anota: “q^e da el criado en su cuenta”; es probable que aquí se incluyan, entre otros, los materiales (cera, laca, pez e hilo para envasar triaca, estereras, escoba) que, en tres recibos por valor de 59 r^s. (Madrid, 31-V-1802), 39 r^s. (Madrid, 31-VI-1812) y 14 r^s. (Madrid, 31-XII-1812) (ARANF, leg. 30.6.1).
53. Escrito de Asensio García, director del Real Colegio de Boticarios, autorizando el pago a Juan Abad, diputado primero del Colegio, por valor de 1.121 r^s. 6 m^s. por la obra de albañilería realizada por Juan Pavón, en la casa propia del Colegio. Madrid, 22-XII-1812. Lleva las firmas de Asensio García [director], Antonio Ginaud [secretario], Gregorio Romero [contador] y Juan López Abad. (ARANF, leg. 30.6.1).
54. Impreso de la Regalía de Casa Aposento. Año de 1811. Manzana 255. Casa n^o 3. “Don Josef Arizcun, depositario de todas las rentas y ramos de la Real Hacienda, consolidacion y extincion de vales reales (...) recibí del R^l. Colegio de Boticarios de esta Corte como Dueño ó Administrador de ella, sita en las C^s. de Atocha y de Sⁿ Blas, señalada con el número y manzana referidos ciento veinte y uno r^s y doce m^{rs}. de vⁿ. por la carga Real de Aposento... Madrid, primero de Agosto de mil ochocientos y once...” (ARANF, leg. 30.6.1).
55. “Francisco Fernández de Ibarra. Tesorero recaudador de las cantidades correspondientes al ramo de alumbrado de calles y serenos de esta villa, cuya direc^{con} tiene en Madrid por órden de S.M.” recibe 96 r^s. por una casa visitada en la calle Atocha. Manzana 255, número 3”. (ARANF, leg. 30.6.1).
56. Escrito de Antonio García, director del Real Colegio de Boticarios, acordando el pago a Francisco Antonio de Cárcel, “Capellan de la que fundo dⁿ Antonio Bustillo sobre la casa de

- la calle de Atocha propia del R^l. Colegio la cantidad de mil cien r^s. vⁿ. producidos de d^{ha} Capellania y correspondientes al medio año cumplido en veinte y nueve de Marzo [1812]. Madrid, 3-IV-1812; lleva las firmas de José Sánchez [secretario], Asensio García [director], Gregorio Romero [contador], Francisco Antonio de Cárcel; en los mismos términos, los “correspondientes al medio año cumplido en veinte y nueve de Septiembre [1812]. Madrid, 10-X-1812; con las firmas de Antonio Ginaud [secretario], Asensio García [director], Gregorio Romero [contador] y Francisco Antonio de Cárcel (ARANF, leg. 30.6.1).
57. Aunque esta partida queda anotada en las cuentas generales del Colegio, no queda constancia de su justificación.
58. Dejamos anotada la partida dada por el tesorero en el balance anual: “á Lázaro Martínez producidos de haber retocado el escudo de armas”, no conservamos la justificación del pago.
59. Escrito de Francisco Mollera, “por haber abierto un sello de madera, para estampar las armas de d^{ho} Real Colegio en los papeles que cubren los botes de la Triaca” [60 r^s.]. Madrid, 6-VI-1812. (ARANF, leg. 30.6.1).
60. Escrito de Mateo Repullés justificando la impresión de cuatro resmas de sobres con el sello de la triaca magna [160 r^s.]. Madrid, 8-VI-1812; Escrito de Mateo Repullés justificando la impresión de cuatro resmas de sobres con el sello de la triaca magna [136 r^s.]. Madrid, 29-VI-1812. (ARANF, leg. 30.6.1).
61. Escrito de José Mariscal, maestro vidriero, con las cuentas de las obras realizadas para el Real Colegio de Boticarios en 1812: 1.100 botes de a media libra (100 r^s.), 525 botes de libra (586 r^s. 26 m^s.), en el mes de octubre puso un canalón nuevo en la fallada de la casa y le dio color (71 r^s. 17 m^s.), hierros para el canalón (4 r^s. 17 m^s.), canalones de plomo para la vertida de aguas al patio (209 r^s.), hierros para mantener los canalones (94 r^s. 17 m^s.), dos calderillas o bajadas de canalón (71 r^s.), horquillas y arreglo de canalones (1.012 r^s. 17 m^s.); en total 2.149 r^s. 26 m^s. Madrid, 20-XII-1812. (ARANF, leg. 30.6.1); Escrito de Juan Abad acusando recibo de 100 botes grandes y 250 chicos realizados por José Mariscal, maestro ojalatero. Madrid, 1-IV-1812. (ARANF, leg. 30.6.1); Escrito de José Barba, diputado del Colegio, acusando recibo de 100 botes de libra y 200 de ½ libra, remitidos por José Mariscal. Madrid, 31-VIII-1812. (ARANF, leg. 30.6.1); Escrito de José Barba, diputado del Colegio, acusando recibo de 100 botes de libra y 200 de ½ libra, realizados por José Mariscal. Madrid, 21-IX-1812. (ARANF, leg. 30.6.1); Escrito de José Barba, diputado del Colegio, acusando recibo de 100 botes de libra y 200 de ½ libra, remitidos por José Mariscal. Madrid, 29-X-1812. (ARANF, leg. 30.6.1); Escrito de Juan Abad, acusando recibo de 125 botes de libra y 250 de ½ libra, producidos por José Mariscal. Madrid, 20-XII-1812. (ARANF, leg. 30.6.1).
62. Escrito de Asensio García, director del Real Colegio de Boticarios, autorizando el pago a Juan Abad, diputado primero del Colegio, por valor 51 r^s. 24 m^s. a José Ribas, criado del Colegio, por “quinze libras de Manrribios [sic] y Jornales de limpiarlos; y quatro arrobas y tres quartillas de Cevollas Albarranas”. Madrid, 22-XII-1812. Lleva las firmas de Asensio García [director], Antonio Ginaud [secretario], Gregorio Romero [contador] y Juan López Abad. (ARANF, leg. 30.6.1).
63. “Los Catorce mil ciento treinta y tres en vales y los Catorce mil ochocientos Cincuenta y seis reales y dicisiete m^s. en efect^o.” Madrid, 20-I-1813. Silverio Pérez [tesorero]; visto bueno de Gregorio Romero de Bustillo [contador]. Madrid, 24-II-1813. “Cuenta que doy al Real Colegio de Boticarios de esta Corte perteneciente á el año prox^{mo}. pasado de 1812: como thesorero que soy [Silverio Pérez]...” (ARANF, leg. 30.6.1). Realmente debieron ser 30.489 r^s. 17 m^s., si solventamos el error de suma que se produce en el cargo, y éste aceptando la ‘perdida’ de cincuenta libras de triaca no justificadas.
64. González Bueno, A. Ciencia, trabajo y piedad: el quehacer farmacéutico en la España de la primera mitad del siglo XVIII. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* **77(3)**, 76-119 (2011).
65. En la Junta general de 27-V-1811, a la que sólo asisten una decena de personas, el hermano mayor “hizo presente la necesidad q^e habia de tomar determinacion, con la capilla situada

en el campo santo del Hospital de la Pasion de esta Corte, bajo la advocacion de N^{ra}. S^{ra}. de los Desamparados de Valencia pues la Comision de Hospitales estaba metiendo prisa por la ruina q^e amenazaba para q^e esta se echase por el pie, visto esto por la Junta determino se le diese comision para su derribo, y para la venta de aquellos mejores enseres que se pudiesen sacar del dicho derribo, al S^r. Dⁿ. Gregorio Romero, lo q^e admitido por dicho S^r. la Junta lo aprobó..." (*Libro de la Congregacion desde el año 1805 á 1835*. ARANF, L-14, cf. fols. 5r-5v). La siguiente Junta particular se celebró el 20-II-1813; en ella el tesorero, Silverio Pérez, presenta las cuentas pertenecientes a todo el año 1811 y 1812, éstas pasan al contador y, vistas y aprobadas, quedan a disposición del informe de la Junta general. (ARANF, L-14, fol. 5v).

66. Los bienes vendidos se tasaron en un total de 1.568 r^s., de lo que se hubo de deducirse la tercera parte, 524 r^s., en que se remató la venta. El pago se efectuó el 2 de noviembre de 1817 ("Razon de los trastos q^e he comprado en el R^l. Colegio de Boticarios á Dⁿ. Placido Brigueha y Regidor su Director con la tercera parte de revaja de su tasacion..." ARANF, L-14, fols. 10r-10v). Y aún "Han quedado en el Colegio y propios de la Congr^{on} los trastos siguientes": una mesa de altar con su ara, un misal estropeado, unas sacas, las tallas de la Virgen de los Desamparados y San Lucas, seis bancos de pino con respaldos, el cajón largo de pino donde se portea la cera, un arca con tres cerraduras, cuatro blandones pequeños de hierro y la tabla donde estaban escritas las indulgencias. (ARANF, L-14, fols. 10v).
67. Disponemos de dos fuentes de información que ofrecen datos parciales; por un lado el balance 'oficial' que presenta el tesorero de la Congregación, Silverio Pérez, en el que aúna los años de 1812 y 1813: "Cuentas que doi, como Tesorero, q^e soi de la Congr^{gn}. de N^{ra}. S^{ra}. de los Desamparados propia de los yndividuos del R^l. Colegio de Boticarios de esta Corte a d^{ha} Congregacion con cargo y Data es como se sigue pertente a los años 1812 y 1813". Madrid, 3-II-1814 (ARANF, leg. 30.7.1); por otro, los justificantes de los libramientos correspondientes al año de 1812 (ARANF, leg. 30.7.2).
68. "Prim^{te}. me hago Cargo de Quinientos veinte y ocho r^s q^e ymportan la contribucion de 22 Congreg^{tes} a razon de veinte y quatro r^s cada uno pertent^{es} al año de 1812 y recibidos del Dep^o dⁿ. Josef Barba...". "Cuentas que doi... pertent^e a los años 1812 y 1813". Madrid, 3-II-1814 (ARANH, leg. 30.7.1). La cifra no es real, pues no todos los congregantes pagan las cuotas en su integridad.
69. "Yt. es Data Cien r^s entregados al Criado de d^{ha} Congrega^{on} Jose Ruiz, por el Cargo que tiene de la recaudacion y otros pertenecientes al año 1812". "Cuentas que doi (...) pertent^e a los años 1812 y 1813" (ARANF, leg. 30.7.1). Recibí, firmado por José Ribas, correspondiente a 100 r^s, entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, por el trabajo de asistir a los entierros y la cobranza a los hermanos. Madrid 23-III-1812; con el visto bueno de Asensio García (ARANF, leg. 30.7.2).
70. Recibí firmado por Aquilino Cavallero, sobre un total de 66 r^s., librados por Silverio Pérez, "del habito p^a mi difunta madre q^e en paz descanse D^a Maria Nicolasa Herrera, viuda de Dⁿ. Francisco Manu^l. Cavallero". Madrid, 22-II-1812. Recibí firmado por José Mariano Andrés, sacristán mayor de la Iglesia de San Juan de Dios, por 96 r^s. de limosna de 24 misas rezadas "q^e he aplicado por el alma de D^a [blanco] Herrera". Madrid, 20-III-1812. (ARANF, leg. 30.7.2).
71. Recibo de Nicolás Moreno, presbítero, entregado por Silverio Pérez, tesorero de la Congregación, por valor de 48 r^s., correspondiente a las doce misas aplicadas por el alma de Andrés Gonzalo, regente de la viuda de Escolar. Madrid, 25-III-1812. Recibí de María de la Paz Rol, por valor de 33 r^s., entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Congregación, "importe de medio abito q^e según los Estatutos esta establecido p^a Dⁿ. Andres Gonzalo Regente q^e fue de mi Botica Plazuela de Herradores". Madrid 22-III-1812 (ARANF, leg. 30.7.2).
72. Recibo de Juan Merino, por valor de 66 r^s., entregados por Francisco de las Bárcenas, importe de un hábito y una cruz que sirvió para amortajar a José Sánchez. Madrid 14-IX-1812. [Nota de Francisco de las Bárcenas reconociendo que la cantidad fue entregada por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, a su padre, Manuel de las Bárcenas]. Recibo de Manuel López Girón, por valor de 48 r^s., entregados por Silverio Pérez, tesorero de la

- Congregación, en razón de las doce misas que, por el ánima de José Sánchez, se han celebrado. Madrid 24-IX-1812. Recibo de Antonio Labrador, capellán de los Reales Hospitales civiles, de una limosna de 44 r^s., entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad por una docena de misas aplicadas por el alma de José Sánchez. Madrid 20-IX-1812 (ARANF, leg. 30.7.2).
73. Recibo de José Mariano Rodríguez, por valor de 48 r^s., entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, por las doce misas rezadas por el alma de Joaquín Pinto. Madrid 4-X-1812. Recibo de Francisco Pérez, por valor de los 33 r^s., entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, por el medio hábito que le correspondía a su hijo político, Joaquín Pinto. Madrid 19-XI-1812 (ARANF, leg. 30.7.2).
74. Recibo de Manuel López Girón, presbítero, por valor de los 48 r^s. entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, por la docena de misas celebradas por el alma de Nicolasa Barañano. Madrid, 6-XI-1812. Recibo de José Mariano Rodríguez, por valor de los 48 r^s. entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, por la docena de misas celebradas por el sufragio del alma de Nicolasa Barañano. Madrid 6-XI-1812. Recibo de Ángel Gerónimo Álvarez, por valor de los 66 r^s. entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, por el hábito de su difunta mujer, Nicolasa de Barañano. Madrid 12-XI-1812. (ARANF, leg. 30.7.2).
75. Recibo de Francisco de Aranzo, por valor de 192 r^s., entregados por Silverio Pérez, tesorero de la Hermandad, por la compra de cera. Madrid 20-VIII-1812. Recibo de Juan de Aranzo, por valor de los 134 ½ r^s., entregados por José Barba, mayordomo de cera de la Hermandad, en razón de las diez libras de cera en cuatro cirios de 2 libras y dos velas a libra, al precio de 14 r^s./libra, con rebaja de 7 r^s. de cera vieja que importan 5½ libra. Madrid 6-XI-1812. [Nota de José Barba de haber recibido el dinero de Silverio Pérez, tesorero del Colegio *[sic]* el 10-XI-1813]. (ARANF, leg. 30.7.2).
76. El balance 'oficial' presentado por Silverio Pérez, tesorero de la Congregación, donde reúne los años de 1812 y 1813, señala como entrada de gastos: "Prim^{te} es Dat tres mil y quatrocientos doze r^s vn en que en la ultima quedó alcanzando a d^{ha} Congr^{on} como consta y se aprobó por el S^r. Contador en la ultima que di el año 1814" ("Cuentas que doi... perten^{te} a los años 1812 y 1813". Madrid, 3-II-1814 (ARANF, leg. 30.7.1); pero en estos movimientos no se incluyen los libramientos recogidos en los recibos conservados en ARANF, leg. 30.7.2. Nosotros apuntamos los valores de estos recibos y los restamos a la cantidad señalada por el tesorero como "la ultima [que] quedó alcanzado a d^{ha} Congr^{on}".
77. Decreto de las Cortes, de 22 de julio de 1811, restableciendo el Tribunal del Protomedicato, tribunal supremo de Salud pública. Decreto de las Cortes, de 21 de setiembre de 1811, ampliando el de 22 de julio del mismo año, y disponiendo que el Tribunal del Protomedicato conste de dos profesores de Farmacia, además de los dos de Medicina, dos de Cirugía y uno de Química, que lo componían. Real Decreto de 11 de setiembre de 1814, suprimiendo el Protomedicato creado por decreto de las Cortes de 22 de julio de 1811, y restableciendo en su lugar las Reales Juntas Superiores de Medicina, Cirugía y Farmacia con las mismas facultades, prerrogativas y atribuciones que tenían a principios del año 1808. Sobre la evolución histórica de esta institución, *cf.* Campos Díez, M.S. *El Real Tribunal del Protomedicato Castellano, Siglos XIV-XIX*. Cuenca, Universidad de Castilla La Mancha, 1999.
78. Un análisis de este aserto en Puerto Sarmiento, F.J. Ciencia y Farmacia en la España decimonónica. *Ayer* 7, 153-191 (1992).

Sesión científica conmemorativa del Premio Nobel 2012 de Fisiología o Medicina y del Premio Nobel de Química



Juan Ramón Lacadena Calero

Coordinador de la sesión.

Sesión celebrada el 13 de diciembre de 2012

e-mail: edicion@ranf.com

ORDEN DEL DÍA

Presentación:

Excmo. Sr. D. Juan-Ramón Lacadena Calero

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Ponentes:

“Una familia de receptores de membrana esencial para la comunicación celular”

Prof. Dr. Federico Mayor Menéndez

Catedrático de Inmunología, Facultad de Medicina, UAM. Director Científico, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa. Hospital Universitario de la Princesa

“Rebobinando la película genética del desarrollo”

Excmo. Sr. D. Juan-Ramón Lacadena Calero

Premios Nobel de Química 2012: Una familia de receptores de membrana esencial para la comunicación celular

Federico Mayor Menéndez

Departamento de Biología Molecular y Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CSIC-Universidad Autónoma de Madrid), Universidad Autónoma, 28049 Madrid (España).

e-mail: fmayor@cbm.uam.es

Recibido el 18 de febrero de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 1 (2013), pag. 132-150.

RESUMEN

El premio Nobel de Química 2012 ha sido otorgado a los investigadores estadounidenses Robert J. Lefkowitz y Brian K Kobilka por sus estudios sobre los receptores acoplados a proteínas G. Esta familia de proteínas de membrana son los sensores biológicos más extendidos y versátiles, responsables en buena medida de la capacidad de nuestras células de recibir mensajes del entorno. Son también la diana de numerosos fármacos utilizados para el tratamiento de múltiples patologías. El trabajo de Lefkowitz ha sido decisivo para desvelar la naturaleza química de estos receptores y para entender mejor sus mecanismos de señalización y de regulación. Lefkowitz y Kobilka consiguieron también identificar el gen que codificaba para el receptor beta-adrenérgico, lo que permitió posteriormente desvelar la existencia de múltiples receptores de características similares. Finalmente, Kobilka ha utilizado la difracción por rayos X para determinar la estructura íntima de estas proteínas. El camino abierto por Lefkowitz y Kobilka permitirá conocer mejor las alteraciones de receptores en situaciones patológicas y avanzar en el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

Palabras clave: Receptores; Proteínas G; Señalización celular.

ABSTRACT

A essential family for cellular communication membrane receptors

The Nobel Prize in Chemistry 2012 has been awarded to Robert J. Lefkowitz and Brian K. Kobilka for their studies on G-protein-coupled receptors. The components of this family of membrane proteins are ubiquitous and versatile biological sensors that play an essential physiological role by allowing our cells to respond to external stimuli. GPCR also are very important pharmacological targets for the treatment of a variety of pathological conditions. The contributions of Lefkowitz have been decisive in unveiling the chemical nature of these receptors and to better understand their signaling and regulatory mechanisms. Lefkowitz and Kobilka also cloned the beta-adrenergic receptor gene and paved

the way for the identification of a large family of structurally-related receptor proteins. Finally, Kobilka has recently determined the tridimensional structure of prototypical GPCRs. The work by Lefkowitz and Kobilka opens exciting avenues for a better knowledge of receptor alterations in pathological situations and for the design of novel therapeutic strategies.

Keywords: Receptors, G proteins, Cell signaling.

1. INTRODUCCIÓN

El premio Nobel de Química 2012 ha reconocido los decisivos estudios de Robert Lefkowitz y Brian Kobilka en la identificación y caracterización de los denominados "receptores acoplados a proteínas G" (conocidos en el ámbito científico como GPCR, por las siglas correspondientes a "G protein-coupled receptors" en idioma inglés), de amplísima relevancia fisiológica y farmacológica (1). En este caso concreto, debo decir que a la satisfacción de todo científico cuando se reconocen los méritos de unos colegas, se suma un componente más personal, ya que conozco muy directamente a los dos premiados, desde que fui discípulo del Profesor Lefkowitz durante mi estancia en Duke University (Carolina del Norte) en los años 1985-1986, periodo en el que Brian Kobilka también formaba parte de su laboratorio. La superfamilia de receptores acoplados a proteínas G constituye un elemento central en las redes de señalización celular, por las que se transfiere información biológica del entorno, y cuyo conocimiento es esencial para entender el funcionamiento de los seres vivos y en particular de los organismos multicelulares.

2. COMUNICACIÓN CELULAR: CAPACIDAD DE RESPUESTA A CAMBIOS EN EL ENTORNO

Todas las células deben recibir continuamente información del ambiente que las rodea, y tomar decisiones basadas en esa información. Así, los organismos unicelulares necesitan distinguir los nutrientes que se encuentran en su cercanía, y regular sus procesos metabólicos de acuerdo con esas disponibilidades.

En el caso de las células de los organismos multicelulares, es preciso que integren la información procedente de las células vecinas y del conjunto del organismo, para tomar decisiones tales como reproducirse, especializarse, moverse a otro sitio o morir. Por tanto, comprender cómo las células reciben y coordinan señales del entorno y de otras células del mismo organismo es esencial para entender procesos biológicos básicos (como la proliferación, diferenciación y apoptosis), la organización en tejidos, el metabolismo, la migración de las células o la propia percepción sensorial.

Antes de la aparición de los organismos multicelulares, los organismos unicelulares ya habían desarrollado mecanismos para responder a cambios en el medio y a detectar en él la presencia de otras células. El advenimiento de organismos multicelulares durante el proceso evolutivo precisó del desarrollo de nuevos sistemas de control de la actividad celular, del establecimiento de normas estrictas que regulasen el funcionamiento de cada una de las células especializadas del organismo para el beneficio del conjunto.

Además, debía asegurarse que la puesta en marcha de respuestas celulares se coordinase de tal manera que todas las células implicadas en un proceso biológico reaccionasen al unísono durante el desarrollo embrionario o ante respuestas fisiológicas. La solución evolutiva a estas necesidades de “socialización” celular fue el desarrollo de un “lenguaje” muy elaborado de comunicación, capaz no sólo de captar las señales externas (particularmente a través de los sistemas de percepción sensorial como la vista o el olfato), sino de integrar la información procedente de las células vecinas y del conjunto del organismo, mediante el establecimiento de rutas complejas de señalización que coordinasen y ejecutasen las respuestas celulares ante cambios ambientales, metabólicos o patogénicos del organismo.

A nivel molecular, los sistemas de señalización celular y de control de la expresión génica controlan el flujo de información desde el DNA a RNA, y de éste a proteínas (en los procesos de transcripción y traducción, respectivamente) y, en niveles de integración superior, regulan dinámicamente el interactoma (las múltiples redes de interacciones que establecen las proteínas y que sustentan las funciones celulares) y la función fisiológica integrada en el organismo global, resultado de la coordinación de todas esas funciones celulares, lo que se ha llamado “fisioloma”. La extraordinaria tarea de estos procesos de coordinación de la actividad celular resulta evidente si se considera que un ser humano adulto consta de aproximadamente 80-100 millones de millones de células, de unos 300 tipos celulares distintos, agrupadas en distintos tejidos y órganos, formando entre sí una intrincada red de conexiones funcionales.

Mensajeros, receptores y cascadas de señalización intracelular: los GPCR como la familia de receptores más extendida y versátil

Los sistemas de señalización son extraordinariamente complejos, asemejándose a complicadas redes o circuitos con múltiples elementos de intersección y control. En general, estos sistemas se basan en la existencia de moléculas (denominadas mensajeros, hormonas, neurotransmisores, o mediadores químicos locales según su origen celular, forma de liberación, y función) que llevan “órdenes” sólo a aquellas células que poseen receptores específicos para reconocer a esa molécula.

Los receptores tienen la capacidad de actuar como detectores de señales y de transformar ese acto de reconocimiento molecular en una señal intracelular (denominada “segundo mensajero”). Los segundos mensajeros, ya desde dentro de la célula, modifican la actividad, localización o interacciones entre proteínas celulares (controlando así el metabolismo, o la función del citoesqueleto, por ejemplo) y también regulan la expresión génica, promoviendo una respuesta celular específica e integrada (Figura 1). Por tanto, los sistemas de señalización celular están normalmente organizados en etapas secuenciales de detección, transformación, amplificación y diseminación de la señal, que son un poderoso instrumento para el control de las principales funciones celulares.

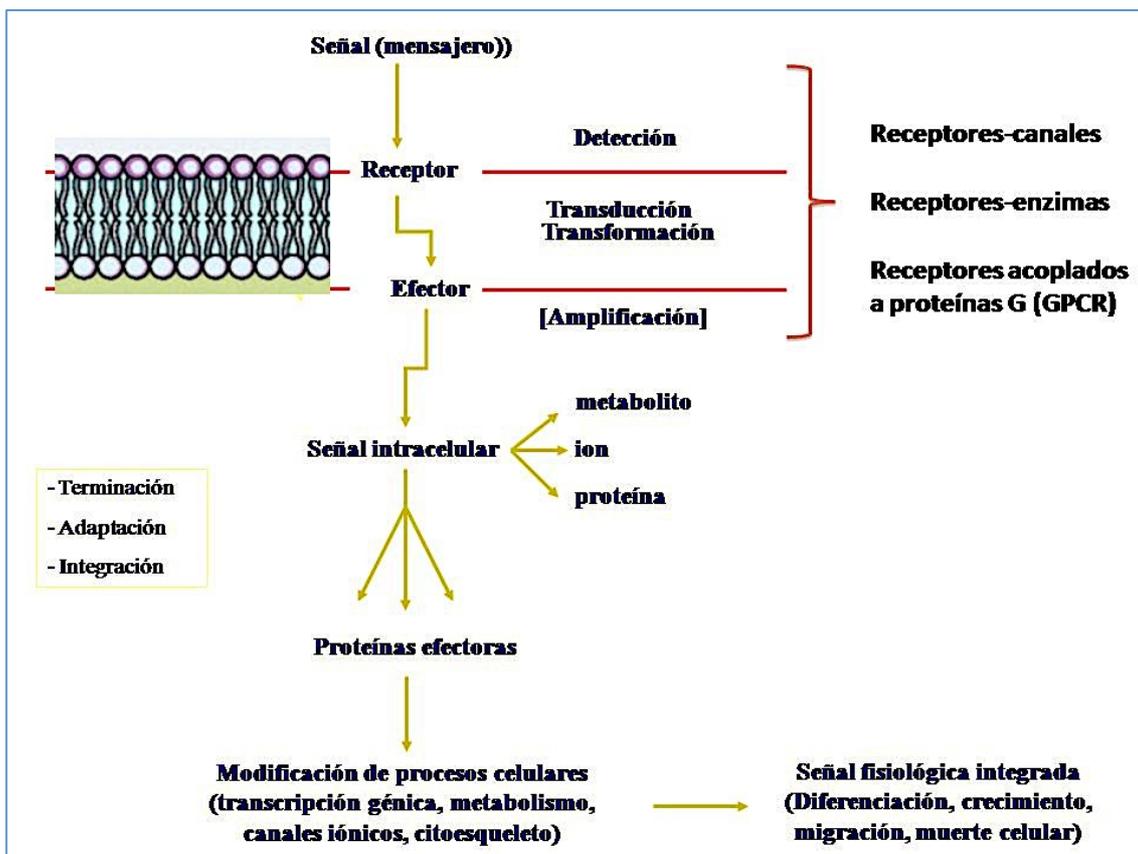


Figura 1.- Organización de las cascadas de señalización controladas por receptores situados en la membrana plasmática.

Es importante recordar que estos sistemas, para ser eficaces, tienen que funcionar de forma transitoria y controlada de tal forma que sólo persista la señal mientras lo haga el mensajero. Por tanto, tienen que existir además procesos de terminación, adaptación e integración que aseguren en todo momento su activación y desactivación controlada.

La mayoría de los mensajeros se unen a receptores situados en la membrana plasmática de las células diana. Se distinguen tres grandes clases de

receptores, definidos por su “estrategia” para transformar la señal extracelular en una intracelular (Figura 1):

- **Receptores acoplados a canales iónicos.** Son proteínas de membrana que dejan pasar iones a través de ellas sólo si está presente el mensajero en la parte extracelular. Estos receptores actúan como “compuertas” que se abren transitoriamente dejando pasar calcio, sodio o cloruro (dependiendo del receptor) a favor de su gradiente electroquímico. Este tipo de receptores (constituidos por varias subunidades de proteínas transmembrana) son especialmente abundantes en células excitables caracterizadas por una gran rapidez de respuesta, como las neuronas o las células musculares.
- **Receptores con actividad enzimática propia.** Son en general proteínas con una región transmembrana que presentan un sitio de unión del mensajero situado en el exterior de la célula y una zona con actividad enzimática (sitio catalítico) en el interior. La unión del mensajero provoca cambios en el receptor (que en muchos casos implica su dimerización, es decir, su cercanía a otro receptor similar) que resultan en la estimulación de su actividad catalítica. Muy frecuentemente esa actividad es de tipo quinasa, es decir, provoca la fosforilación en un residuo de tirosina, de serina o de treonina de la propia proteína receptora y de otras proteínas celulares, modificando transitoriamente su función. Muchos mensajeros de tipo peptídico, como la insulina, y muchos factores que controlan el crecimiento de las células utilizan este tipo de receptores.
- **Receptores acoplados a proteínas G.** En los dos tipos de receptores anteriores, la capacidad de reconocer al mensajero y de promover y amplificar una señal intracelular (a través de un canal iónico o una actividad enzimática) residían en la misma proteína. En este último tipo participan 3 proteínas de membrana distintas: el receptor (que es en este caso una proteína que atraviesa 7 veces la membrana), unas proteínas transductoras denominadas proteínas G (situadas en la periferia interna de la membrana plasmática) y otra proteína efectora o amplificadora. Entre estas proteínas efectoras se encuentran la adenilil ciclasa (que produce el segundo mensajero denominado AMP cíclico a partir del ATP celular), fosfolipasas (que “liberan” segundos mensajeros “almacenados” en forma de lípidos en la membrana), o canales para diversos iones. Este sistema de señalización ha tenido un gran “éxito evolutivo”, ya que es la familia de receptores más extensa, más ubicua y más versátil. Los humanos tenemos casi mil receptores de esta familia en nuestro genoma (1-4), capaces de reconocer específicamente a un repertorio extremadamente variado de estímulos, desde fotones en la retina a múltiples aromas en el epitelio olfativo, pasando por receptores para aminas biógenas, aminoácidos,

derivados lipídicos, péptidos y proteínas en múltiples tejidos, que controlan múltiples aspectos de la función celular y de la homeostasis del organismo (Figura 2).

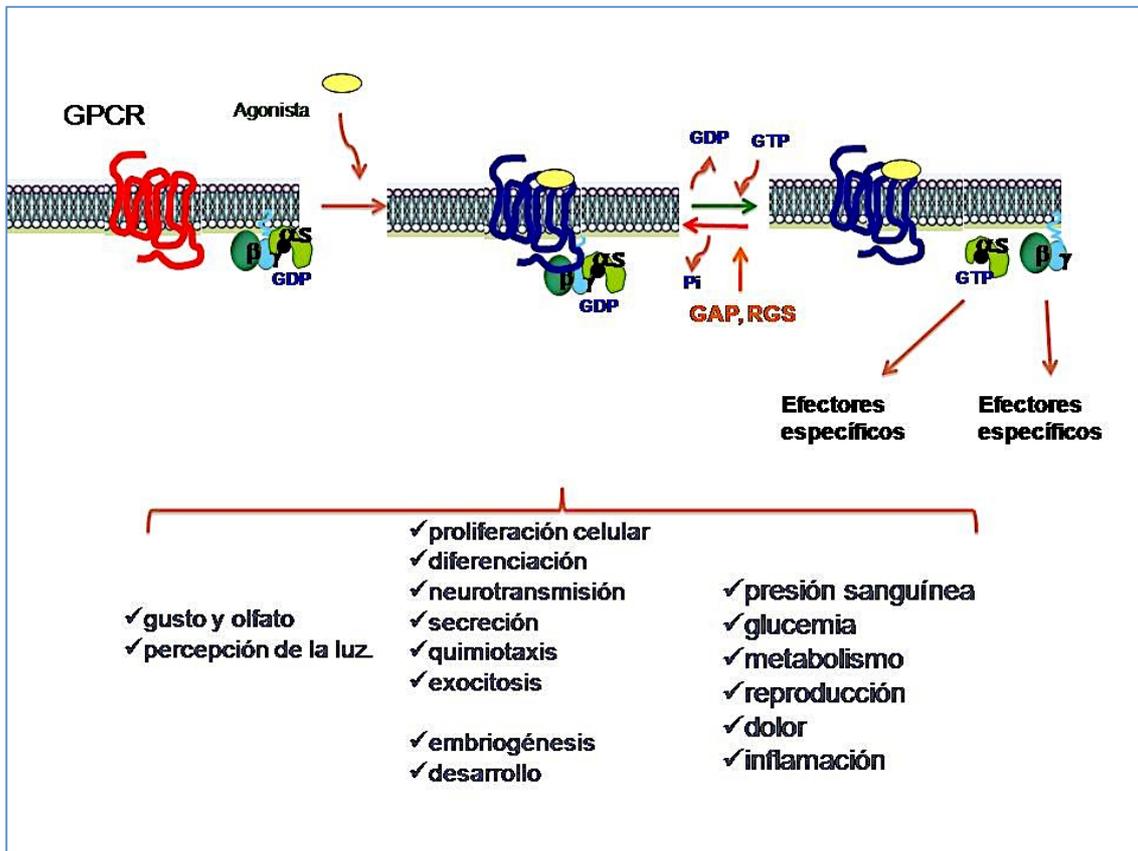


Figura 2.- Señalización mediada por receptores acoplados a proteínas G. La llegada del agonista promueve la interacción del receptor con la proteína G y el intercambio de GDP por GTP, lo que a su vez conduce a la disociación de las subunidades de la proteína G heterotrimérica, que pueden entonces interaccionar con efectores específicos y controlar una gran variedad de procesos celulares básicos, la percepción sensorial y diversos aspectos de la homeostasis del organismo. La activación de las proteínas G es transitoria, ya que su capacidad GTPasa (estimuladas por las proteínas GAP o RGS) vuelve el sistema a su situación basal.

Las proteínas G son interruptores moleculares que se activan transitoriamente. Estas proteínas pueden encontrarse en dos conformaciones espaciales diferentes: una forma inactiva, cuando unen al nucleótido GDP, y otra forma activada capaz de unirse con otras proteínas celulares denominadas efectoras, cuando unen GTP. Pero esta activación es intrínsecamente transitoria, ya que estas proteínas son GTPasas, es decir, destruyen al cabo de un breve tiempo el GTP transformándolo de nuevo en GDP, y vuelven así a su estado basal. Tanto el encendido (intercambio de GDP por GTP) como el apagado (hidrólisis de GTP) de este interruptor molecular se puede modular por su interacción con otras proteínas.

Hoy sabemos que cuando los GPCR reconocen a su mensajero (por ejemplo, el receptor de adrenalina a la adrenalina), cambian su conformación y pueden

entonces interaccionar con una proteína G de tipo heterotrimérico unida a GDP, lo que a su vez promueve el intercambio de GTP por GDP. La proteína G en su estado activo interacciona con efectores (como la adenilil ciclasa) modificando parámetros intracelulares que diseminan la señal extracelular. Las subunidades Gbetagamma que se liberan simultáneamente pueden también actuar sobre diversos efectores celulares (Figura 2) Posteriormente, la proteína G hidroliza GTP a GDP (en un proceso que puede ser activado por familias de proteínas estimuladoras de la actividad GTPasa, denominadas GAP o RGS (5,6) y el sistema vuelve a su conformación basal. Sólo si sigue habiendo mensajero en el exterior de la célula se repetirá el ciclo de activación y desactivación.

Los GPCR son también muy relevantes por sus implicaciones fisiopatológicas y en farmacología (1,4,7,8). En muchas enfermedades se encuentran alterados los niveles de mensajeros y/o las rutas de señalización que controlan GPCRs. Por ejemplo, en patologías cardiovasculares existen aumentos en los niveles de mensajeros como catecolaminas, angiotensina o endotelina, que alteran a su vez el normal funcionamiento y crecimiento de tipos celulares cardiovasculares, y pueden conducir a hipertrofia cardiaca y a fallo cardiaco. La gran capacidad de control de las funciones celulares de los GPCR puede aprovecharse para modificarla de la forma más eficaz y específica posible.

Así, pueden seleccionarse o diseñarse compuestos químicos capaces de unirse con gran afinidad a los mismos receptores que nuestros mensajeros internos, consiguiendo así mimetizar (agonistas) o impedir (antagonistas) su acción. Por ejemplo, agonistas de receptores beta2-adrenérgicos son eficaces broncodilatadores y se utilizan para tratar el asma; antagonistas beta1-adrenérgicos se utilizan para el tratamiento de la hipertensión; antagonistas del receptor H2 de la histamina inhiben la excesiva secreción gástrica; agonistas de receptores de opiáceos, como la morfina, se utilizan como analgésicos, etc.

3. EVOLUCIÓN DEL CONCEPTO DE RECEPTOR

El concepto de receptores como elementos sensores del entorno se remonta a Paul Ehrlich en el año 1903, cuando se avanzó la idea de que las sustancias biológicamente activas podrían unirse a sitios específicos en las superficies de las células. Posteriormente, en la primera década del siglo XX, JN Langley y su estudiante Henry Dale fueron los primeros en proponer explícitamente la idea de una sustancia receptora en las células capaces de responder a estímulos, basados en experimentos clásicos de fisiología y farmacología, utilizando preparaciones de músculo esquelético o liso y de glándulas salivales para estudiar los efectos de la adrenalina o la acetil-colina (9, 10). Sin embargo, la naturaleza físico-química de estos receptores era desconocida. En la década de 1940 el farmacólogo Raymond Ahlquist, examinando las diferentes reacciones de órganos a la adrenalina y

sustancias químicas relacionadas, introdujo el concepto de la existencia de subtipos de receptores adrenérgicos (11): unos cuyo efecto principal es la contracción de células de músculo liso vascular (receptores alfa-adrenérgicos) y otros que estimulan la contracción cardiaca (beta-adrenérgicos).

Posteriormente, científicos como James Black (Premio Nobel de Fisiología o Medicina en el año 1988) desarrollaron sustancias capaces de interferir con la acción de la adrenalina y la noradrenalina en el corazón, los denominados fármacos beta-bloqueantes, que tuvieron una extraordinaria repercusión en el tratamiento de la enfermedad coronaria y la hipertensión.

A pesar de estos importantes progresos, a principios de los años 1960 existía todavía un conocimiento muy escaso de las características moleculares de los receptores y de los mecanismos de transmisión de la señal. En esta década se produjo un avance conceptual crítico, la teoría del segundo mensajero (12) sugerida por Earl Sutherland (que obtuvo el Premio Nobel en el año 1971). Sutherland había trabajado con el nobel Carl Cori estudiando los mecanismos por los que la adrenalina regula la degradación de glucógeno a glucosa en el hígado. Más adelante descubrió que para promover este efecto la adrenalina no entra en la célula sino que estimulaba la síntesis en el otro lado de la membrana de AMP cíclico (AMPC), tras la activación de una enzima adenilil ciclasa.

El AMPC actúa entonces como “segundo mensajero” transmitiendo la señal a proteínas intracelulares mediante la activación de una proteína quinasa dependiente de este nucleótido cíclico, identificada por Edwin Krebs (13).

En el marco de la teoría de la regulación alostérica que habían propuesto en el año 1963 Monod, Changeux y Jacob, una hipótesis muy atractiva era que la adenilil-ciclasa fuese una enzima alostérica de membrana con dos sitios diferentes, uno receptor en el exterior y otro catalítico en el interior de la célula. Sin embargo, los científicos estadounidenses Martin Rodbell y Alfred Gilman demostraron en la década de los 70 y principios de los 80 del siglo pasado que la realidad era más compleja, y que la actividad adenilil-ciclasa requería la presencia e hidrólisis de GTP, y que existían unas proteínas transductoras, denominadas proteínas G, que actuaban como intermediarios entre el reconocimiento de la adrenalina por su receptor y la estimulación de la actividad adenilil-ciclasa (14, 15). Estos científicos compartieron el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en el año 1994.

En este contexto es en el que el trabajo de Robert Lefkowitz dio un impulso decisivo al entendimiento de la naturaleza y mecanismo de acción de los receptores de adrenalina. Lefkowitz, nacido en el año 1943 en el barrio de Bronx en Nueva York, se había formado como cardiólogo en la Universidad de Columbia y había realizado, tras un periodo de actividad clínica, una estancia postdoctoral en los Institutos Nacionales de la Salud con J. Roth e I. Pastan, trabajando en la

identificación de las acciones de la hormona ACTH utilizando ensayos de radioligandos.

Sin embargo, cuando se estableció en la Universidad de Duke como investigador independiente en el año 1973, centró sus esfuerzos en los receptores beta-adrenérgicos, quizá por su formación como cardiólogo y unido al hecho de que su padre había fallecido recientemente a causa de una patología cardiaca. Durante los siguientes años, el laboratorio de Lefkowitz desarrolló una serie de técnicas que fueron esenciales para demostrar la existencia de los receptores como entidades moleculares diferenciadas, su cuantificación, y posterior purificación (Figura 3).

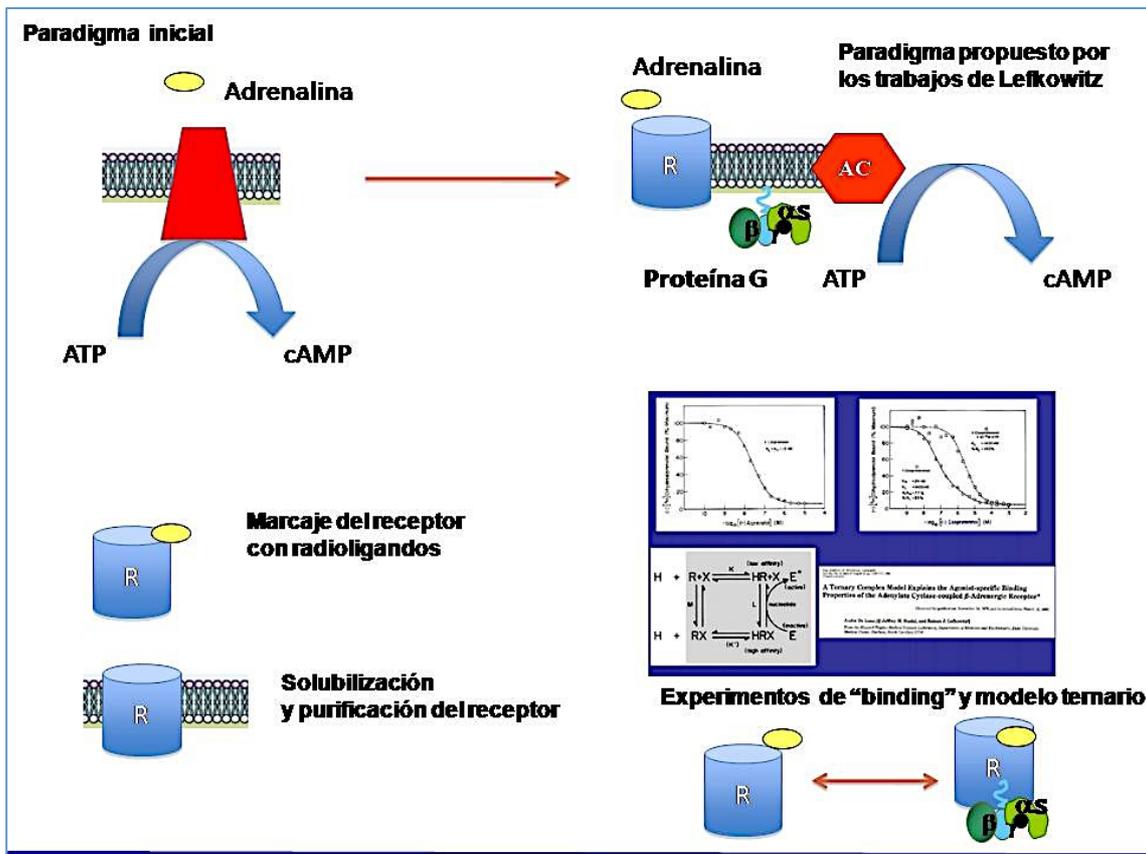


Figura 3.- Contribuciones esenciales del laboratorio de Lefkowitz en la identificación del receptor de adrenalina y de los mecanismos de activación de la adenilil-ciclasa.

La utilización de ligandos del receptor beta-adrenérgico marcados radioactivamente permitió la detección y cuantificación del receptor en las membranas celulares (16). Posteriormente, los ensayos de unión de ligando en diferentes condiciones experimentales permitieron identificar interacciones alostéricas complejas entre los receptores y las proteínas G. Así, la afinidad de los ligandos por el receptor beta-adrenérgico podía modularse por la presencia de GTP, mientras que la presencia de un agonista aumentaba la interacción entre el receptor y la proteína G. Estos experimentos llevaron a Lefkowitz, De Lean,

Limbird y Stadel a proponer el denominado "modelo del complejo ternario", en el que el receptor activado unido a la proteína G constituía el elemento estimulador de la actividad adenilil-ciclasa (17-19).

Otro paso esencial en la caracterización del receptor beta-adrenérgico fue su solubilización y purificación. Con alguna excepción, como es la caso de la rodopsina en la retina, los receptores de membrana se encuentran generalmente en muy pequeñas concentraciones, lo que dificulta mucho su aislamiento y purificación. Gracias a la utilización de detergentes como la digitonina, Marc Caron y Lefkowitz consiguieron solubilizar un receptor funcional en el año 1976 (20).

A continuación Marc Caron, desarrolló métodos de cromatografía de afinidad basados en el antagonista beta-adrenérgico alprenolol, que permitieron la purificación de los receptores purificados en columnas de alprenolol-sefariosa a principios de los años 80 (21,22). La disponibilidad del receptor purificado permitió hacer un experimento conceptualmente crítico (23): Lefkowitz, en colaboración con Eva Neer y Lutz Birnbaumer, realizó experimentos de reconstitución de receptores purificados, proteínas G purificadas y la actividad catalítica de la adenilil-ciclasa, demostrando definitivamente que el mecanismo de transmisión de la señal de adrenalina incluía tres entidades moleculares diferentes.

CLONAJE DEL RECEPTOR BETA-ADRENÉRGICO Y EL NACIMIENTO DE UNA FAMILIA DE RECEPTORES DE MEMBRANA

El propio Bob Lefkowitz ha recordado en entrevistas realizadas en los últimos años que 1986 marcó un punto de inflexión crítico en su investigación (24). En efecto, entonces tuvo lugar el paso decisivo de identificar el gen que codificaba para el receptor beta-adrenérgico, lo que permitió también conocer la secuencia y características de los aproximadamente 400 aminoácidos que componen esa proteína.

Ese proyecto lo lideraba en su laboratorio un postdoctoral de extraordinaria perseverancia y talento, llamado Brian Kobilka. Este investigador, nacido en Little Falls (Minnesota) en 1955 y formado también como médico cardiólogo en la Universidad de Yale, se había incorporado como postdoctoral en la Universidad de Duke en el año 1984. La disponibilidad de receptor beta-2-adrenérgico purificado permitió intentar el clonaje del gen y cDNA de este receptor utilizando técnicas de microsecuenciación peptídica, para diseñar luego oligonucleótidos degenerados para intentar identificar el cDNA del receptor en genotecas de DNA genómico. Después de varios años de esfuerzo el grupo de Kobilka y Lefkowitz (en colaboración con Cathy Strader en Merck) consiguió publicar la secuencia completa del receptor beta-2 adrenérgico de hámster en el

número de la revista Nature de mayo de 1986 (25). Sorprendentemente, el receptor de la adrenalina presentaba notables similitudes con el receptor de la luz (la rodopsina), en el sentido de que ambos parecían presentar siete tramos de aminoácidos capaces de atravesar la membrana celular (Figura 4).

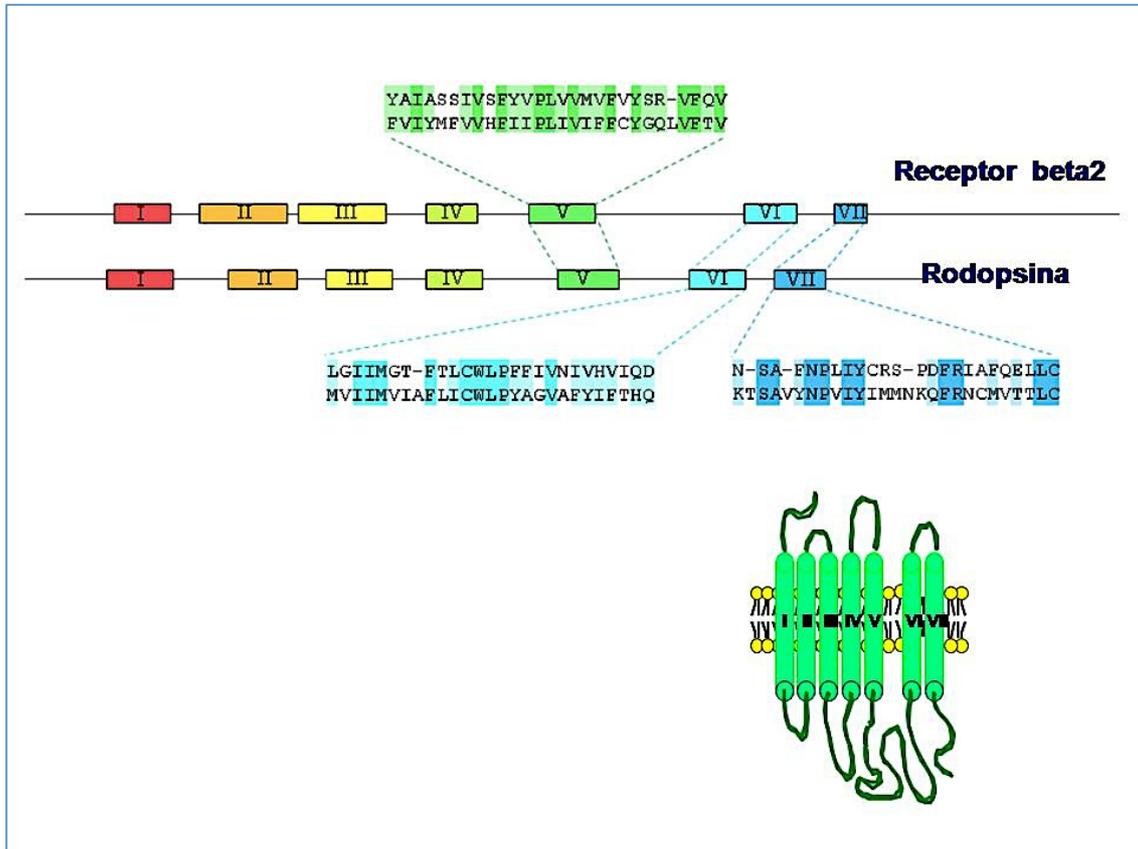


Figura 4.- Clonaje del receptor beta adrenérgico y concepto de familia de receptores acoplados a proteínas G. El conocimiento de la secuencia del receptor beta-2-adrenérgico permitió su comparación con la de la rodopsina e identificar similitudes en su estructura global y en la secuencia de sus dominios transmembrana, lo que permitió proponer la existencia de una familia de receptores de 7 dominios transmembrana con similares rasgos estructurales.

Al mismo tiempo, el laboratorio de Lefkowitz también descubrió que los mecanismos de regulación del receptor de adrenalina eran muy parecidos a los de la rodopsina de la retina. Se había descrito que en presencia de luz la rodopsina activada se fosforilaba en su dominio intracelular por una enzima denominada rodopsina quinasa, lo que promovía su desensibilización. También en 1986, Benovic, Mayor, Caron y Lefkowitz publicaron un artículo en Nature (26) en el que identificaban que una quinasa similar, denominada quinasa del receptor beta adrenérgico (β ARK por sus siglas en inglés) era capaz de fosforilar al receptor beta-2 adrenérgico en respuesta a adrenalina, y también a la rodopsina en respuesta a la presencia de luz (Figura 5).

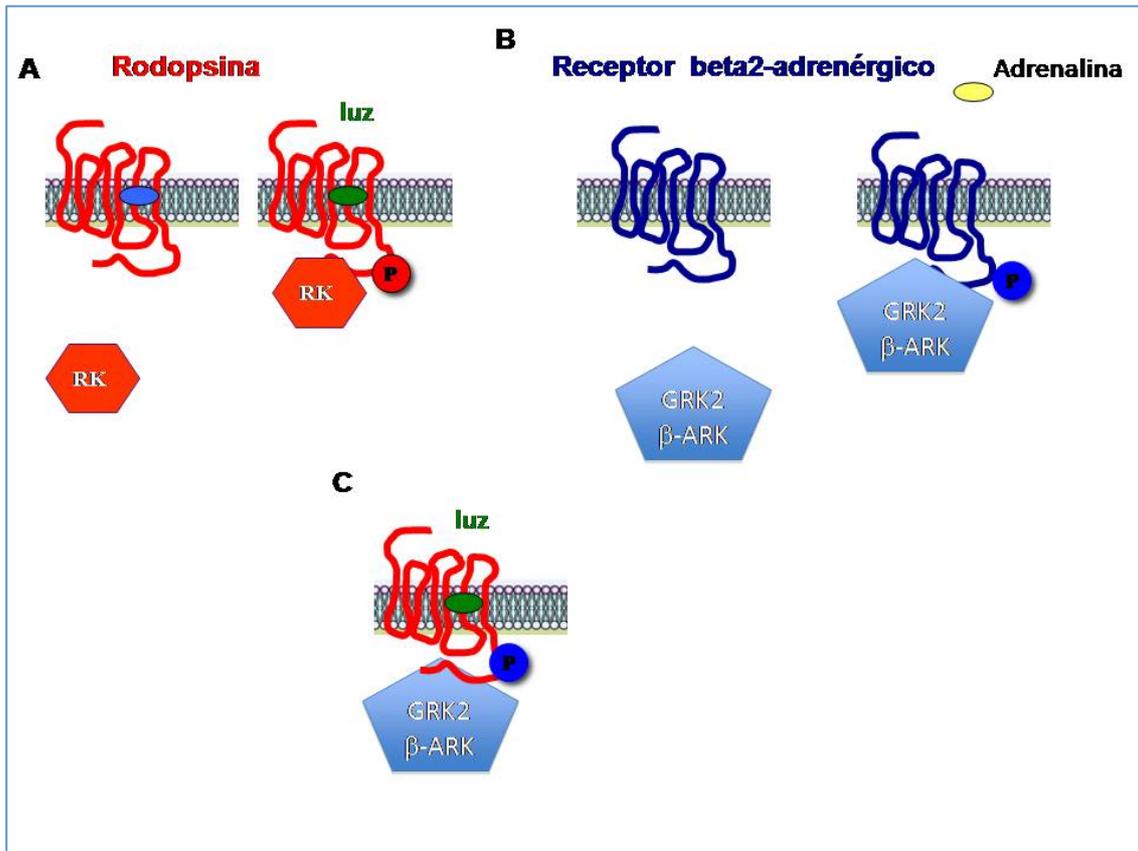


Figura 5.- Similitud entre los mecanismos de regulación por fosforilación de la rodopsina y del receptor beta-2 adrenérgico promovidos por la presencia de agonistas.

Se vislumbraba, por tanto, la emergencia de una "familia" de receptores para estímulos externos muy diversos, pero que conservaba unos rasgos estructurales, de funcionamiento y de regulación común: estaba naciendo lo que luego resultó ser la gran familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR), también llamados por sus características estructurales receptores de siete dominios transmembrana, o receptores "serpentina".

En los siguientes años, el clonaje por el laboratorio de Lefkowitz de diversos subtipos de receptores adrenérgicos (revisado en 23 y 24), y de un receptor muscarínico de acetil-colina por el grupo de Numa (27) corroboró la idea de la existencia de una gran familia de receptores relacionados estructural y funcionalmente.

Por otra parte, Lefkowitz y Kobilka realizaron experimentos con receptores quiméricos que combinaban secuencias de receptores alfa-2 y beta-2 adrenérgicos que fueron muy relevantes para identificar dominios intracelulares del receptor implicados en la interacción con subtipos de proteínas G específicos (28). También el grupo de Lefkowitz, con especial protagonismo de su colaborador J.L. Benovic, desarrolló a finales de la década de 1980 y en la década de 1990 la caracterización en detalle de los mecanismos de regulación de GPCRs por las proteínas GRKs y

arrestinas, abriendo nuevas perspectivas sobre el funcionamiento y los mecanismos de señalización de esta familia de proteínas (29, 30).

5. DESVELANDO LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DE LOS RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G.

A pesar del inmenso progreso que suponían estos nuevos avances, persistían algunas preguntas clave: ¿cómo y dónde se unen los ligandos de GPCRs de forma específica? ¿cómo se transmite la señal y se promueve la activación de las proteínas G? La respuesta a estas preguntas requirió de nuevos experimentos bioquímicos y biofísicos y, muy particularmente, precisaba dilucidar la estructura cristalina de estos receptores.

Tras trasladarse a la Universidad de Stanford (California) en 1989, Brian Kobilka se propuso un reto que tardó casi 20 años en alcanzar: determinar la estructura en el espacio de esos receptores. Este proyecto presentaba algunos retos muy difíciles de resolver: los GPCRs son proteínas de membrana de poca abundancia relativa y son proteínas muy dinámicas, capaces de adoptar diversas conformaciones, así como altamente inestables en detergentes, presentando poca exposición de superficies hidrofílicas. Todo ello suponía un auténtico reto a la hora de intentar su cristalización.

Para hacer frente a estas dificultades el grupo de Brian Kobilka en colaboración con investigadores como Gebhard Schertler y Raymond Stevens desarrollaron diversas soluciones alternativas (31-33), que incluyeron el desarrollo de sistemas de expresión de alto rendimiento de receptores recombinantes en baculovirus, la utilización de nuevos detergentes, la co-cristalización de receptores con antagonistas o agonistas inversos capaces de estabilizar conformaciones específicas del receptor; el incremento del área hidrofílica de los receptores para facilitar la cristalización mediante la fusión con fragmentos tipo FAb o "nanobodies" o con T4 lisozima, la utilización de mutantes de receptores con mayor estabilidad...

Todo ello permitió publicar en el año 2007 la primera estructura del receptor beta2-adrenérgico unido al antagonista carazolol (31). Este avance facilitó también la comparación detallada con las estructuras tridimensionales de la rodopsina que, gracias a su mayor abundancia y facilidad de purificación, se habían obtenido por diversos autores particularmente Krzystztof Palczewski y Okada alrededor del año 2000 (34,35).

Estos progresos en la "ingeniería" de GPCRs y su cristalografía han permitido un avance acelerado en los últimos años en el conocimiento de nuevas estructuras. A finales del año 2012 se habían obtenido 16 estructuras de GPCRs, 9 de ellas publicadas en el propio año 2012 (revisado en referencia 36) . Entre estas

estructuras se incluyen las de los receptores beta-1 adrenérgicos, muscarínicos tipo M2 y M3, el receptor H1 de histamina, el receptor D3 de dopamina, el receptor tipo A2a de adenosina, el receptor de esfingosina 1 fosfato S1P1, el receptor de quimioquinas CXCR4, tres subtipos de receptores de opiáceos (OPRK1, OPRM1, OPRD1), el receptor de nociceptina OPRL1, así como receptores de neurotensina y el receptor de proteasas PAR1 (36,37). Además, algunos de ellos han sido co-cristalizados en complejo con diferentes ligandos, lo que ha permitido investigar los cambios conformacionales relacionados con la unión de diversos compuestos químicos.

La obtención de estas diversas estructuras ha permitido conocer con precisión los dominios de receptores implicados en la interacción con sus ligandos específicos y las similitudes y diversidades estructurales presentes en los dominios extracelulares, transmembrana, e intracelular de los diversos GPCRs (revisado en detalle en las referencias 36 y 37).

La última frontera en este conocimiento de la estructura tridimensional de los receptores ha sido la identificación de los cambios estructurales que tienen lugar tras la activación del receptor y que conducen a la estimulación de las proteínas G. Para ello una vez más ha sido decisiva la aportación de Brian Kobilka, publicada en dos artículos sucesivos en la revista Nature el 29 de septiembre del año 2011 (38,39).

En estos trabajos su grupo describió la cristalización de un receptor beta-2 adrenérgico activado por agonista en complejo con la proteína G α s. Experimentos de una gran complejidad técnica, que incluyen la ingeniería de estas proteínas para favorecer la estabilización de ese complejo, han permitido identificar las superficies de interacción y los principales cambios estructurales que tienen lugar en las diversas proteínas del complejo (Figura 6).

En el caso del receptor beta-2 adrenérgico, el cambio conformacional más significativo incluye un movimiento hacia el exterior del extremo citoplásmico del segmento transmembrana 6 y una extensión en alfa-hélice del extremo citoplásmico del segmento transmembrana 5. Estos dos movimientos coordinados permiten la separación de los bucles intracelulares 2 y 3 de la estructura del receptor y la creación de un "bolsillo" hidrofóbico donde puede unirse la proteína G α s (Figura 6). En concreto, la inserción en de la hélice α 5 C-terminal de G α s en esta hendidura hidrofóbica transitoria formada en el receptor activado por agonista permite a su vez cambios importantes en la estructura de la proteínas G, mediante la rotación de su dominio GTPasa y el remodelado de la región β 6- α 5, lo que facilitaría la liberación de GDP y el consiguiente paso de la proteína G a su estado activo.

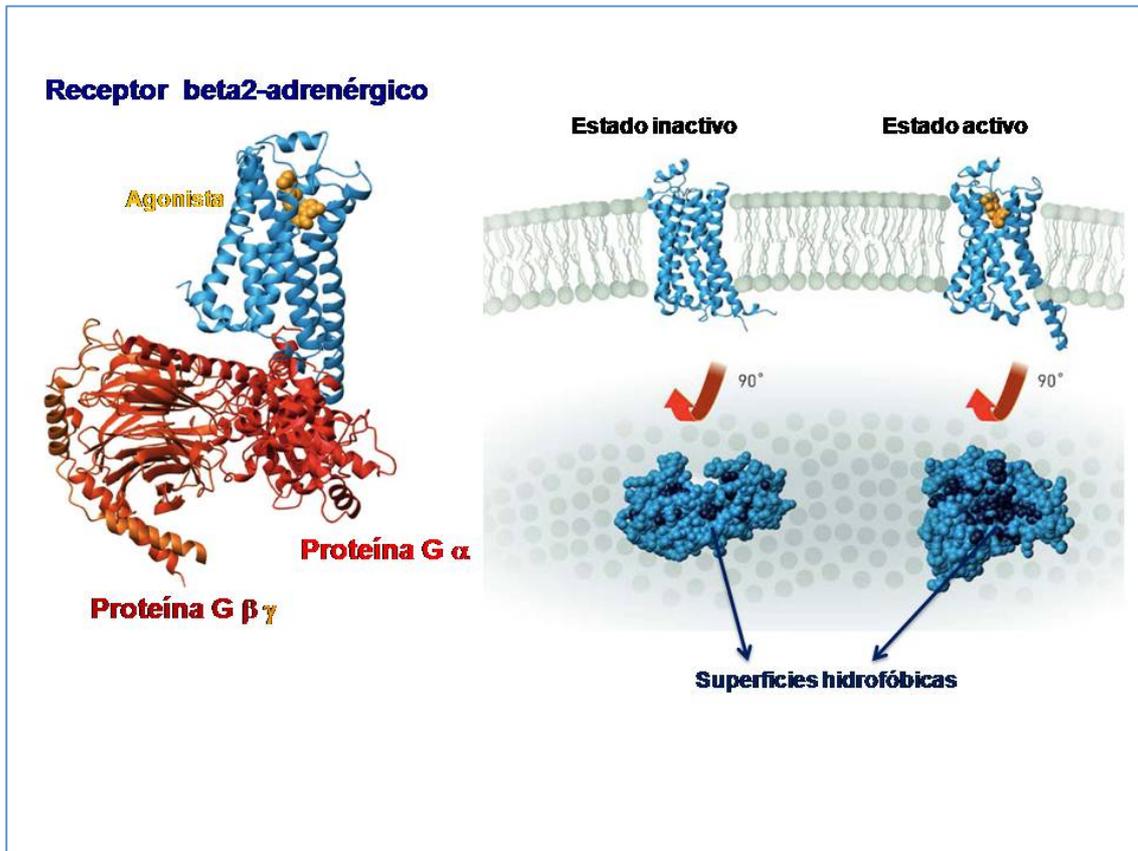


Figura 6.- Estructura tridimensional del receptor beta-2 adrenérgico y cambios promovidos tras su activación. Los trabajos de Kobilka han permitido cristalizar el receptor beta-2-adrenérgico activado por agonista en complejo con la proteína G e identificar las principales superficies de interacción entre estas proteínas. En el esquema de la derecha se muestran los principales cambios conformacionales promovidos por agonistas, que conducen a un aumento de las superficies hidrofóbicas que se ofrecen a las proteínas G en el interior de la célula (esquema modificado de www.nobel.org).

En definitiva, todos estos estudios están permitiendo obtener información muy relevante sobre las distintas conformaciones activas de los GPCRs y sobre cómo son capaces de transmitir información al interior de la célula. El concepto general que parece emerger es que la familia de receptores de 7 dominios transmembrana tendría una arquitectura general modular, compuesta por un módulo de unión de ligandos y otro módulo de señalización hacia el interior celular (Figura 7).

El módulo de unión de ligandos, formado por las bucles extracelulares del receptor y la parte más externa de sus dominios transmembrana, presenta la mayor diversidad entre los distintos receptores GPCR (lo que permitiría explicar su interacción específica con múltiples ligandos diferentes) y sufre cambios conformacionales menos acusados en presencia de agonistas (37). Por el contrario, el módulo de señalización hacia el interior de la célula, formado por la parte más interna de los dominios transmembrana y por los bucles intracelulares del

receptor, presenta menor diversidad entre las subfamilias de GPCRs y sufre cambios conformacionales muy evidentes tras la llegada de los ligandos, permitiendo así la transmisión de la señal al interior de la célula (37). El hecho de que este último módulo sea más conservado es también coherente con el hecho de que 800 receptores para sustancias diferentes puedan converger en la interacción con las mismas proteínas G, o ser regulados por las mismas familias de quinasas GRKs y de arrestinas.

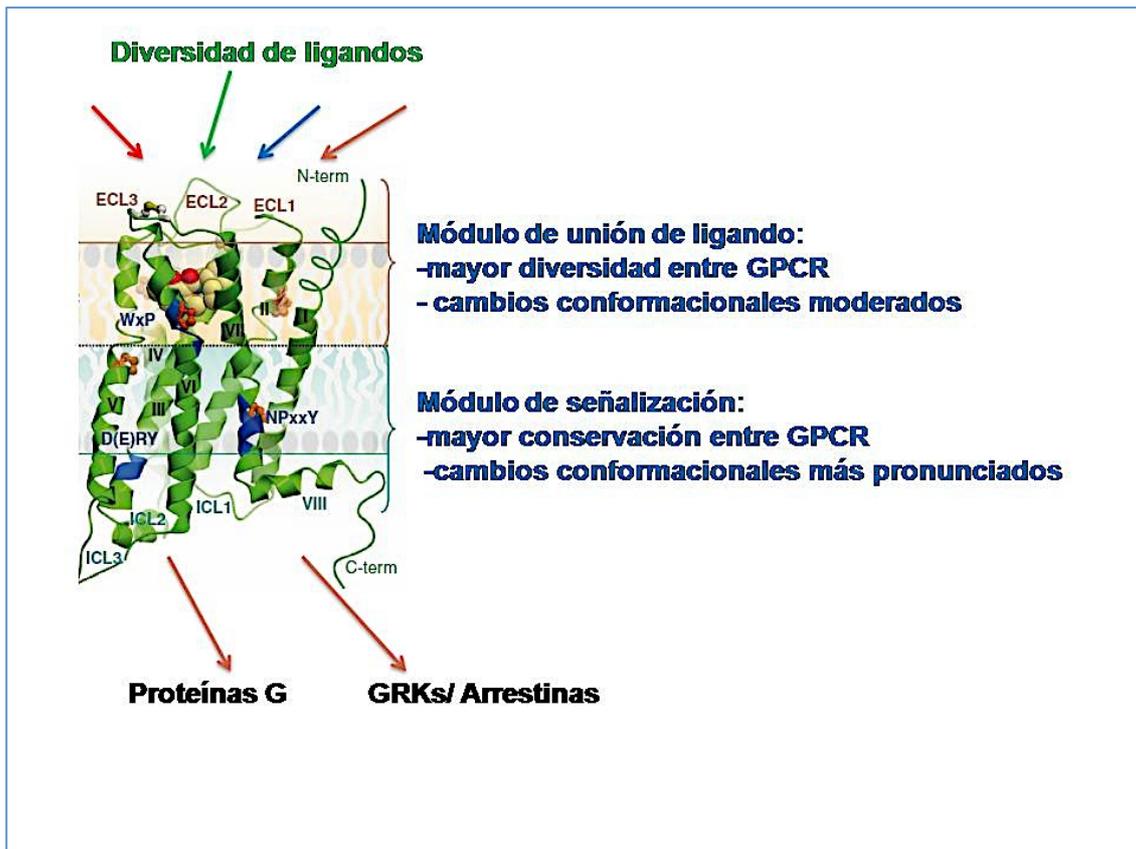


Figura 7.- Arquitectura modular de la familia de receptores acoplados a proteínas G. Los GPCR se estructuran en dos módulos con distintos grados de divergencia de secuencia y de movilidad conformacional (esquema inspirado en la referencia 37).

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

La concesión del Nobel de Química a Lefkowitz y Kobilka completa justamente el reconocimiento que en años precedentes se había ido otorgando a los otros descubridores de pautas esenciales de este lenguaje de comunicación celular (Earl Sutherland, premio Nobel 1971 por identificar por primera vez el AMPc como segundo mensajero y Al Gilman y Martin Rodbell, premio Nobel 1994 por su descubrimiento de las proteínas G). Sin embargo, hay todavía muchos interrogantes abiertos en este campo.

Entre ellos, cabe destacar las nuevas vías de señalización de receptores de 7 dominios transmembrana consecuencia de su interacción con las proteínas GRKs

y arrestinas. Estas proteínas no solamente actuarían como reguladores negativos del acoplamiento de los GPCR a las proteínas G (que es como fueron identificados), sino que presentan complejos interactomas que les permiten también participar en la propagación de la señal de estos receptores tras la llegada de un agonista (30,40). Esta divergencia de señalización de los receptores de 7 dominios transmembrana entre vías dependientes de proteínas G y otras cascadas dependientes de GRKs y arrestinas ha llevado también a la identificación de los que se ha denominado “biased ligands”, sustancias químicas que de manera preferente inducen la interacción del receptor bien con proteínas G, bien con GRKs/arrestinas, lo que puede tener un gran interés para el desarrollo de nuevos fármacos. En este mismo sentido, el mejor conocimiento de los “bolsillos” de unión de ligandos a los GPCRs facilitará el diseño de nuevos compuestos químicos con mayor afinidad y/o selectividad (4,36,37).

Por otra parte, se está identificando la existencia de GPCRs codificados por diversos virus, que podrían tener un papel relevante en su capacidad patogénica y constituir potenciales dianas para su tratamiento.

Por último, la secuenciación del genoma humano ha puesto de manifiesto la presencia en nuestra información genética de múltiples miembros de la familia de receptores 7 dominios transmembrana sin mensajero fisiológico conocido (los denominados GPCRs huérfanos), lo que presenta el importante reto de identificar sus ligandos endógenos y sus funciones fisiológicas e implicaciones patológicas.

En definitiva, el camino abierto con extraordinaria clarividencia y perseverancia por Lefkowitz y Kobilka, seguido actualmente por muchísimos otros investigadores, permitirá seguir conociendo mejor las alteraciones de receptores en situaciones patológicas y avanzar en el diseño de nuevas estrategias terapéuticas. Hay aún mucho trabajo por hacer y muchas preguntas por contestar.

7. REFERENCIAS

1. Pierce, K.L.; Premont, R.T.; Lefkowitz, R.J. Seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3, 639-650. (2002)
2. Nordstrom, K. J.; M. Sallman Almen, et al. Independent HHsearch, Needleman-Wunsch-based, and motif analyses reveal the overall hierarchy for most of the G protein-coupled receptor families. *Mol Biol Evol* 28, 2471-2480 (2011).
3. Fredriksson, R; Schioth H. B. The repertoire of G-protein-coupled receptors in fully sequenced genomes. *Mol Pharmacol* 67, 1414-1425. (2005).
4. Lagerstrom, M. C.; Schioth H. B. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 7, 339-357 (2008).
5. Sprang, S. R. G protein mechanisms: insights from structural analysis. *Annu Rev Biochem* 66, 639-678 (1997).
6. Sprang, S. R. G proteins, effectors and GAPs: structure and mechanism. *Curr Opin Struct Biol* 7, 849-856 (1997).

7. Overington, J. P.; Al-Lazikani, B. How many drug targets are there?. *Nat Rev Drug Discov* 5, 993-996 (2006).
8. Tyndall, J. D.; R. Sandilya. GPCR agonists and antagonists in the clinic. *Med Chem* 1, 405-421 (2005).
9. Langley, J. N. Observations on the physiological action of extracts of the supra-renal bodies. *J Physiol* 27, 237-256 (1901).
10. Dale, H. H. On some physiological actions of ergot. *J Physiol* 34, 163-206 (1906).
11. Ahlquist, R. P. Adrenergic receptors: a personal and practical view. *Perspect Biol Med* 17, 119-122 (1973).
12. Rall, T. W.; Sutherland, E. W. Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles. *J Biol Chem* 232, 1065-1076. (1958).
13. Walsh, D. A.; Perkins, J. P. et al. An adenosine 3',5'-monophosphate-dependant protein kinase from rabbit skeletal muscle. *J Biol Chem* 243, 3763-3765 (1968).
14. Rodbell, M.; Birnbaumer, L. et al. The glucagon-sensitive adenyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. V. An obligatory role of guanylnucleotides in glucagon action. *J Biol Chem* 246, 1877-1882 (1971).
15. Ross, E. M.; Gilman A. G. Resolution of some components of adenylate cyclase necessary for catalytic activity. *J Biol Chem* 252, 6966-6969 (1977).
16. Lefkowitz, R. J.; Mukherjee, C. et al. Stereospecific (3H)(minus)-alprenolol binding sites, beta-adrenergic receptors and adenylate cyclase. *Biochem Biophys Res Commun* 60, 703-709 (1974).
17. De Lean, A.; Stadel, J. M. et al. A ternary complex model explains the agonist-specific binding properties of the adenylate cyclase-coupled beta-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 255, 7108-7117 (1980).
18. Limbird, L. E.; Gill, D. M. et al. Agonist-promoted coupling of the beta-adrenergic receptor with the guanine nucleotide regulatory protein of the adenylate cyclase system. *Proc Natl Acad Sci USA* 77, 775-779 (1980).
19. Kent, R.A.; DeLean, A; Lefkowitz, R.J. A quantitative-analysis of beta-adrenergic receptors interactions: resolution of high and low affinity states of the receptor by computer modeling of ligand binding data. *Mol. Pharm.* 17, 14-23. (1979)
20. Caron, M. G. ; Lefkowitz, R. J. Solubilization and characterization of the beta-adrenergic receptor binding sites of frog erythrocytes. *J Biol Chem* 251, 2374-2384 (1976).
21. Shorr, R. G.; Lefkowitz, R. J. et al. Purification of the beta-adrenergic receptor. Identification of the hormone binding subunit. *J Biol Chem* 256, 5820-5826 (1981).
22. Benovic, J. L.; Shorr, R. G. et al. The mammalian beta 2-adrenergic receptor: purification and characterization. *Biochemistry* 23(20): 4510-4518 (1984).
23. Lefkowitz, R. J. Seven transmembrane receptors: a brief personal retrospective. *Biochim Biophys Acta* 1768 748-755 (2007).
24. Lefkowitz, R. J. Historical review: a brief history and personal retrospective of seven-transmembrane receptors." *Trends Pharmacol Sci* 25(8): 413-422 (2004).
25. Dixon, R. A.; B. K. Kobilka, et al. Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature* 321, 75-79 (1986).
26. Benovic, J. L.; F. Mayor, Jr., et al. Light-dependent phosphorylation of rhodopsin by beta-adrenergic receptor kinase. *Nature* 321, 869-872 (1986).
27. Kubo, T.; Fukuda, K. et al. Cloning, sequencing and expression of complementary DNA encoding the muscarinic acetylcholine receptor. *Nature* 323, 411-416 (1986).

28. Kobilka, B. K.; Kobilka, T. S. et al. Chimeric alpha 2-,beta 2-adrenergic receptors: delineation of domains involved in effector coupling and ligand binding specificity. *Science* 240, 1310-1316 (1988).
29. Pitcher, J.A; Freedman, N.J.; Lefkowitz, R.J. G protein-coupled receptor kinases. *Annu Rev Biochem* 67, 653-792 (1998).
30. Lefkowitz ,R.J.; Shenoy, S.K. Transduction of receptor signals by beta-arrestins. *Science* 308, 512-517 (2005)
31. Rasmussen, S. G.; Choi, H. J. et al. Crystal structure of the human beta2 adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature* 450, 383-387 (2007).
32. Cherezov, V.; Rosenbaum, D. M. et al. High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science* 318, 1258-1265 (2007).
33. Rosenbaum, D. M.; Cherezov, V. et al. GPCR engineering yields high-resolution structural insights into beta2-adrenergic receptor function. *Science* 318, 1266-1273 (2007).
34. Palczewski, K.; Kumasaka, T. et al. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor. *Science* 289, 739-745 (2000).
35. Okada, T.; Fujiyoshi, Y. et al. Functional role of internal water molecules in rhodopsin revealed by X-ray crystallography. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 5982-5987. (2002).
36. Katritch, V.; Cherezov, V. et al. Structure-function of the g protein-coupled receptor superfamily. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 53, 531-556 (2013).
37. Katritch, V.; Cherezov, V. et al. Diversity and modularity of G protein-coupled receptor structures. *Trends Pharmacol Sci* 33, 17-27 (2012).
38. Rasmussen, S.G.; DeVree, B.T. et al. Crystal structure of the beta2 adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature* 477, 549-555 (2011).
39. Chung, K. Y.; Rasmussen, S. G. et al. Conformational changes in the G protein Gs induced by the beta2 adrenergic receptor. *Nature* 477, 611-615 (2011).
40. Penela, P., Murga, C. et al. The complex G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2) interactome unveils new physiopathological targets. *Br J Pharmacol* 160, 821-832 (2010).

El Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012: Rebobinando la película genética del desarrollo

Juan Ramón Lacadena

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.
e-mail: edicion@ranf.com

Recibido el 18 de febrero de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 1 (2013), pag. 151-171.

RESUMEN

En el presente trabajo se glosan las investigaciones sobre reprogramación celular llevadas a cabo mediante transferencia nuclear de células somáticas y la obtención de células troncales pluripotentes inducidas (iPS).

Palabras clave: Reprogramación celular; Transferencia nuclear; Células troncales pluripotentes inducidas; células iPS.

ABSTRACT

Rewinding the genetic film of development

Investigations on cell reprogramming carried out by cell nuclear transfer and the induction of somatic pluripotent stem cells (iPS) in mammals awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012 are analyzed.

Keywords: Cell reprogramming; Nuclear transfer; Induced pluripotent stem cells; iPS cells.

1. INTRODUCCIÓN

El 8 de octubre de 2012 se hacía público que la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska había concedido el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012 a los Dres. Sir John B. Gurdon (Gurdon Institute, Universidad de Cambridge, UK) y Shinya Yamanaka (Universidad de Kyoto, Japón) “por el descubrimiento de que células maduras [diferenciadas] pueden ser reprogramadas para convertirse en pluripotentes”. Permítaseme recordar aquí que en el discurso inaugural del año 2011 que tuve el honor de pronunciar en esta Real Academia recogí las siguientes palabras en el apartado correspondiente a las células troncales pluripotentes inducidas: “El hecho de que Yamanaka junto con Gurdon recibieran en 2009 el Premio Albert Lasker de Investigación Básica en Medicina puede ser una anticipación de que, antes o después, recibirán el merecido premio Nobel”. No tardó dos años en cumplirse mi profecía.

En la concesión de un premio Nobel puede premiarse una investigación pionera en un campo científico o una investigación posterior basada en el cambio de paradigma que supuso aquella. En el caso que hoy nos ocupa, la Asamblea Nobel ha tenido el acierto de premiar ambas cosas: por un lado, a Sir John B. Gurdon que hace 50 años, en 1962, demostró la posibilidad de que la información genética contenida en el núcleo de células diferenciadas de un anfibio pudiera ser reprogramada para reiniciar un proceso de desarrollo completo y, por otro lado, a Shinya Yamanaka que 44 años más tarde encontró las claves genéticas para inducir la reprogramación celular en mamíferos como el ratón y el ser humano

2. CONCEPTO GENÉTICO DE DESARROLLO

El desarrollo se puede definir como un “proceso regulado –es decir, bajo control genético– de crecimiento y diferenciación resultante de la interacción núcleo-citoplásmica, del ambiente celular interno y del medio externo mediante el cual se produce la formación del individuo adulto a partir de una célula inicial única: el cigoto originado por la fecundación de los gametos”. El cigoto reúne la información genética necesaria (aunque a veces no suficiente) para programar la formación del nuevo ser, de manera que, de no mediar alteraciones de cualquier tipo que interfieran con el proceso, a partir del momento en que empieza a funcionar el primer gen en dicha célula, la programación genética conducirá inexorablemente a la formación del individuo adulto. El proceso de desarrollo es, por tanto, una secuencia programada de cambios fenotípicos controlados espacial y temporalmente que constituyen el ciclo vital del organismo (1).

En el proceso global de desarrollo cabe distinguir los siguientes fenómenos o componentes del desarrollo:

- La replicación genética (ADN) y la proliferación celular, que producen el crecimiento;
- La diferenciación celular o citodiferenciación, fenómeno por el cual células que tienen un origen común y, por tanto, son genéticamente idénticas, divergen en su estructura y/o función, dando lugar a líneas celulares morfológicamente y/o fisiológicamente diferentes;
- La histogénesis, como resultado de la agregación de células diferenciadas para constituir un tejido con función especializada;
- La organogénesis, como consecuencia de la asociación de tejidos, dando como resultado final la forma del individuo (morfogénesis);
- Por último, podría considerarse el comportamiento como una expresión multidimensional del desarrollo.

En el contexto del Premio Nobel que conmemoramos, solamente haremos referencia a la diferenciación celular. La citodiferenciación es debida a una

actividad génica diferencial determinada por causas ambientales intra o extra celulares aunque en algunas ocasiones pueda ser producida por o ir acompañada de modificaciones cromosómicas estables (numéricas, estructurales o fisiológicas) de la dotación cromosómica de las células. La cuestión fundamental que se plantea es si las células diferenciadas conservan la capacidad (multipotencia o pluripotencia) de originar un tejido u órgano diferente al que estaban programadas o a un organismo completo (totipotencia), comportándose como un verdadero cigoto si las condiciones experimentales las indujeran a ello.

3. REPROGRAMACIÓN NUCLEAR

Desde el punto de vista genético, por reprogramación nuclear se entiende el cambio en la expresión génica de una clase de célula a otro tipo de célula no relacionada con ella. Como señalaban Gurdon y Melton (2), las primeras evidencias experimentales sobre reprogramación se obtuvieron en las décadas de los 50 y 60 del siglo pasado con los trabajos sobre clonación en anfibios. A partir de ahí habría que tener en cuenta las técnicas de clonación por transferencia nuclear de células somáticas en mamíferos (SCNT, somatic cell nuclear transfer), la fusión celular, las células troncales embrionarias y adultas, la inducción de pluripotencia por expresión génica ectópica (células iPS, induced pluripotent stem cells) y la reprogramación directa que permite transformar un tipo de célula diferenciada en otra célula diferenciada (transdiferenciación) sin pasar por la fase intermedia equivalente de una célula pluripotente. Lo mismo que en la Edad Media los alquimistas trataban de transmutar en oro a otros metales, en la actualidad estamos viviendo una nueva clase de alquimia -la alquimia celular (3)- que convierte una célula en otro tipo de célula.

El Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012 que hoy conmemoramos tiene que ver con la clonación por transferencia de núcleos (Gurdon) y con la inducción de células troncales pluripotentes (Yamanaka).

4. LA CLONACIÓN POR TRANSFERENCIA DE NÚCLEOS

4.1. Anfibios

En la década de los cincuenta del siglo pasado, Briggs y King (4) trasplantaron núcleos de células de blástula, gástrula, néurula y renacuajo de *Rana pipiens* a citoplasmas de óvulos sin fecundar que habían sido enucleados mediante micro manipulaciones para comprobar si tales núcleos eran capaces de dar marcha atrás en su proceso informativo y volver a dar un desarrollo normal. Los resultados obtenidos mostraron que al trasplantar núcleos del estadio de blástula se obtenía un desarrollo normal, mientras que al trasplantar los núcleos de células de gástrula, néurula o renacuajo disminuía de forma progresiva la capacidad de

desarrollo. La conclusión evidente era que cuanto más diferenciadas estaban las células donantes de los núcleos tenían menos capacidad de desarrollo total (totipotencia).

Sin embargo, diez años después del primer experimento de Briggs y King, en 1962 John B. Gurdon (5) hizo un experimento que le ha valido el Premio Nobel sesenta años más tarde, porque su investigación cambió la idea de que la diferenciación celular era un proceso irreversible, sentando las bases para el desarrollo posterior de las técnicas de reprogramación nuclear, tanto en la obtención de mamíferos clónicos como en la obtención de células troncales, de especial importancia en la Biomedicina.

Los experimentos de Gurdon consistieron en transferir el núcleo de una célula diferenciada (célula ciliada epitelial de intestino) de renacuajo del sapo con garras africano (*Xenopus laevis*) al citoplasma de un óvulo cuyo núcleo había sido destruido mediante radiación ultravioleta, obteniendo un sapo macho y otro hembra normales, aunque con una frecuencia pequeña (1%).

Como comprobación experimental de que la técnica de transferencia nuclear había sido correcta, Gurdon utilizó como cepa donadora del núcleo un mutante nucleolar obtenido por Fischberg (6), en cuyo laboratorio había trabajado con anterioridad, que mostraba en el núcleo interfásico un solo nucleolo en lugar de dos que tenía la cepa receptora normal. Diez años más tarde, Kobel y colaboradores (7) obtuvieron un sapo hembra fértil transfiriendo núcleos de células no ciliadas de epidermis de renacuajo, ratificando así las experiencias de Gurdon.

A pesar de la evidencia experimental aportada por Gurdon y la corroboración por Kobel y colaboradores, sin embargo la clonación en anfibios por transferencia de núcleos de células diferenciadas fue recibida con cierto escepticismo por parte de la comunidad científica (8) porque, como señala la propia Institución Nobel, el descubrimiento de Gurdon “hizo añicos el dogma de que la diferenciación celular sólo podía ser un proceso unidireccional” (9).

De hecho, la idea científica vigente entonces estaba muy enraizada con el modelo de canalización del desarrollo propuesto por Waddington en 1957 (10) en la década anterior en el que comparaba el proceso de desarrollo con un paisaje epigenético de montañas y valles en el que las células indiferenciadas están en las cumbres de las montañas y en el proceso de diferenciación entran en los valles de forma que ya no podrán volver al estado diferenciado que representan las cumbres.

Otro ejemplo muy gráfico que solía utilizar yo en mis clases de Genética era el de los cambios de vía de una estación de tren donde se clasificaban los vagones llevándolos a las vías muertas del la diferenciación.

4.2. Mamíferos

Si en anfibios había sido posible la clonación por transferencia de núcleos, ¿por qué no podía ser posible también en mamíferos? Sin embargo, las investigaciones realizadas inicialmente en ratones dieron resultados negativos, dando pie a que se llegara a decir en palabras del mayor exponente en el campo de la investigación genética embriológica en ratón de aquella época que “la clonación por transferencia de núcleos en mamíferos es biológicamente imposible” (11).

Es obvio que términos como imposible, siempre o nunca no pueden ser usados en cuestiones científicas. De hecho, trece años más tarde, en 1997, la comunidad científica y la sociedad conocieron con perplejidad que en el Instituto Roslin de Edimburgo había nacido la oveja Dolly originada por transferencia del núcleo de una célula de glándula mamaria de una oveja adulta a un ovocito enucleado en una investigación dirigida por el Dr. Ian Wilmut (12). Este trabajo del grupo de Wilmut abrió las puertas a la clonación por transferencia de núcleos en mamíferos; así, hasta la fecha de hoy, se han obtenido animales clónicos en otras muchas especies: ratón, vaca, mono rhesus, cabra, cerdo, gato, conejo, carnero “bateng”, mulo, caballo, rata, ciervo, perro, lobo, camello, toro de lidia, coyote. Cuando se conoció la noticia del nacimiento de la oveja Dolly, un periódico hacía un comentario con el titular “hoy la oveja, mañana el pastor” planteando el problema ético que supondría obtener humanos clónicos.

Como ha ocurrido en otras ocasiones, en el camino de la concesión de este Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012 ha habido algún damnificado: me refiero al Dr. Ian Wilmut (Roslin Institute, Universidad de Edimburgo, UK) y a su colaborador el Dr. Keith Campbell –fallecido unos días antes de la concesión del premio por lo que no hubiera podido recibir el galardón según las normas de la institución Nobel– que muy bien podría haber compartido el premio con el Dr. Gurdon reconociendo su mérito por la clonación de la oveja Dolly que abrió las puertas a la clonación en mamíferos.

5. CÉLULAS TRONCALES PLURIPOTENTES INDUCIDAS (IPS) (13)

5.1. Células troncales

La terapia celular, basada en la transferencia de células o tejidos a los tejidos u órganos dañados, es una de las grandes esperanzas de la Medicina Regenerativa del futuro. El establecimiento de cultivos celulares de tejidos humanos en el laboratorio es a veces muy difícil. Por ello, desde el punto de vista clínico es innegable el avance que supondría la posibilidad de poner a punto técnicas que permitieran obtener cualquier tipo de cultivos de tejidos y, acaso en un futuro más lejano, de órganos. En este contexto, no cabe duda que el uso de las células troncales. puede resultar fundamental.

Por célula troncal se entiende cualquier célula indiferenciada que tiene la doble capacidad de dividirse de forma ilimitada y, en un cierto momento, diferenciarse dando lugar a diferentes tipos de células especializadas. De acuerdo con esta segunda capacidad, las células troncales pueden ser totipotentes, pluripotentes y multipotentes en razón a su mayor o menor versatilidad o potencialidad, tal como se definen a continuación:

- **Célula totipotente:** Célula troncal que tiene la capacidad de diferenciarse en el embrión y en tejidos y membranas extraembriónicas. Las células totipotentes contribuyen a todos los tipos celulares de un organismo adulto. La totipotencia es la capacidad funcional de una célula de dar lugar a un individuo completo tras un proceso de desarrollo normal. Las células totipotentes de un embrión muy temprano tienen la capacidad de diferenciarse en membranas y tejidos extraembriónicos, en el embrión y en todos los tejidos y órganos postembriónicos. En el embrión humano, parece ser que solamente son totipotentes los blastómeros hasta el estadio de mórula de 16 células.
- **Célula pluripotente:** Célula troncal presente en los estadios tempranos de desarrollo embrionario (blastocisto) que puede generar todos los tipos de células en el feto y en el adulto y es capaz de autorrenovación. Las células pluripotentes, sin embargo, no son capaces de desarrollarse en un organismo completo. La pluripotencia es la capacidad funcional de una célula de dar lugar a varios linajes celulares o tejidos diferentes. Las células troncales embrionarias (ES) presentes en la masa celular interna (MCI) del blastocisto humano son pluripotentes, pero no totipotentes; es decir, pueden originar distintos tejidos u órganos pero no dar lugar al desarrollo completo de un embrión porque no pueden producir las membranas y tejidos extraembriónicos necesarios para el proceso de gestación. No obstante, podría ocurrir que una célula pluripotente de la masa celular interna se convirtiera en totipotente.
- **Célula multipotente:** Célula troncal presente en los tejidos u órganos adultos que tiene una capacidad limitada de reactivar su programa genético como respuesta a determinados estímulos que le permiten dar lugar a algunos, pero no todos, los linajes celulares diferenciados. La multipotencia es la capacidad funcional de una célula de dar lugar a alguno, pero no todos, los linajes celulares. Algunas células troncales presentes en tejidos u órganos adultos son multipotentes. A veces se utiliza el término plasticidad como equivalente a multipotencia.

Hay varias clases de células troncales (embrionarias, adultas, pluripotentes inducidas) cuya eficacia en el establecimiento de cultivos de tejidos en el laboratorio y sus valoraciones éticas y jurídicas son diferentes. Aunque los tres

tipos de células troncales pueden tener una aplicación clínica, sin embargo las células iPS son especialmente indicadas en la terapia celular de la Medicina Regenerativa porque al tratarse de una transferencia autóloga se evita el rechazo inmunológico. En el presente contexto únicamente se hará referencia a las células troncales pluripotentes inducidas (células iPS).

5.2. Células troncales pluripotentes inducidas (iPS), una esperanza ética para el futuro (14)

Células iPS de ratón

Desde el año 2003, el laboratorio de Yamanaka (15) estaba interesado en el estudio de los factores necesarios para mantener la pluripotencia de las células troncales embrionarias, identificando el gen Nanog (16) a la vez que lo hacía el grupo de Austin Smith (17). A partir de entonces decidió investigar la posibilidad de inducir la pluripotencia en células somáticas. Conociendo el trabajo de Tada y colaboradores (18) del año 2001 en el que demostraron que la fusión de células somáticas con células ES induce la pluripotencia del núcleo somático, Yamanaka seleccionó un conjunto de 24 factores de transcripción como posibles candidatos para inducir la pluripotencia en células somáticas, descartando uno a uno los factores que no parecían capacitados para ello.

Finalmente, en 2006 Yamanaka (19), logró la reprogramación de células somáticas de ratón utilizando solamente cuatro genes reguladores de la transcripción (Oct3/4, Sox2, c-Myc y Klf4) que fueron capaces de convertir fibroblastos embrionarios de ratón en células troncales pluripotentes, por lo que se le puede acreditar la paternidad de la técnica (20) que fue ratificada por el grupo de investigación de Rudolf Jaenisch (21). Posteriormente, Yamanaka refinó la técnica original (22). En 2009, María Blasco y colaboradores demostraron que es necesaria la presencia de la actividad telomerasa en la obtención de células iPS en ratón (23).

Pensando en una futura aplicación clínica de estas técnicas hay que señalar dos inconvenientes: en primer lugar, la utilización de un retrovirus como vector para introducir los genes reguladores que reprograman las células somáticas y, en segundo lugar, en el caso de Yamanaka, la utilización del proto-oncogén c-Myc, lo cual puede suponer un obstáculo para lograr la autorización para llevar a cabo la investigación clínica. De hecho, un 20% de los ratones implantados con células iPS desarrollaron teratomas cancerosos. Más tarde, en 2011, Yamanaka y colaboradores (24) obtenían células iPS a partir de fibroblastos de ratón y humanos sustituyendo el factor c-Myc por el factor de transcripción Glis1 (de la familia de zinc finger 1), evitando el posible efecto dañino del proto-oncogén c-Myc. El factor Glis 1 promueve múltiples vías de reprogramación, tales como las Myc, Nanog, Lin28, Wnt, Essrb y la transición mesenquima-epitelial.

Para obviar estas dificultades clínicas se han introducido algunas mejoras técnicas: por ejemplo, Yamanaka y colaboradores (25) han obtenido las células iPS sin utilizar vectores virales en ratones. Para ello utilizaron la transfección repetida de dos plásmidos de expresión en fibroblastos de embriones, uno era portador de los ADNc (ADN complementario) de Oct3/4, Sox2 y Klf4 y el otro del de c-Myc. En las células iPS obtenidas no se produjo la integración del plásmido en el genoma, evitando la formación de teratomas.

Por su parte, Jaenisch y colaboradores (26), con objeto de reducir el número de partículas virales necesarias para la reprogramación y por tanto disminuir el peligro de la mutagénesis inducida por la integración de ADN viral en el genoma, lograron que los cuatro factores de reprogramación Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc pudieran ser expresados a partir de un único promotor viral, generando células iPS tanto a partir de células embrionarias o adultas de ratón como a partir de queratinocitos humanos.

Por otro lado, Melton y colaboradores (27) obtuvieron células iPS a partir de fibroblastos humanos utilizando solamente los factores Oct4 y Sox2, evitando la presencia de los proto-oncogenes Klf4 y c-Myc y sus posibles efectos dañinos. Incluso, más tarde, Schöler y colaboradores (28) demostraron que la presencia única del gen Oct4 bastaba para obtener células iPS (que denominan 1FiPS) a partir de células troncales neuronales de ratón adulto.

Un nuevo avance en el tema de la células iPS se produjo en abril de 2009 cuando Ding y colaboradores (29) lograron transformar células somáticas de ratón en células troncales pluripotentes inducidas (iPS) sin introducir en las células información genética alguna sino, simplemente, poniendo a las células en presencia de determinadas proteínas.

Células iPS humanas

El paso a la obtención de células troncales pluripotentes inducidas en la especie humana la realizaron casi simultáneamente el grupo de Yamanaka y el de Thomson. En 2007, Thomson y colaboradores (30) lograron reprogramar células somáticas adultas humanas (procedentes de prepucio de recién nacido y de piel de feto) y convertirlas en células troncales pluripotentes, introduciendo en ellas mediante un vector viral cuatro genes (Oct4, Sox2, Nanog y Lin28) que regulan la transcripción (factores de transcripción). Estas células troncales pluripotentes inducidas (células iPS, induced pluripotent stem cells) tienen cariotipo normal, expresan actividad telomerasa, expresan marcadores celulares de superficie y genes que caracterizan a las células troncales embrionarias (ES) y mantienen el potencial de desarrollo para diferenciarse en células de las tres capas germinales primarias. La eficacia de la técnica es de una célula iPS obtenida por cada 10.000 células tratadas que, en términos prácticos, es muy alta.

La publicación del trabajo del grupo de Thomson fue simultánea con la del grupo de Shinya Yamanaka (31) quienes utilizando como vector un retrovirus introdujeron en células somáticas humanas (células de la piel de la cara de una mujer de 36 años y de tejido conectivo sinovial de un varón de 69 años) cuatro genes reguladores de la transcripción (Oct3/4, Sox2, c-Myc y Klf4) con una eficacia de una célula troncal pluripotente inducida (iPS) obtenida por cada 5.000 células de piel utilizadas en el tratamiento. Por su parte, Izpisúa Belmonte y su grupo (32) mostraron que la utilización de queratinocitos de cabello humano resultaba cien veces más eficaz y era el doble de rápido que cuando se utilizaban fibroblastos.

Como se ha indicado anteriormente, Melton y colaboradores obtuvieron en 2008 células iPS a partir de fibroblastos humanos utilizando solamente los factores Oct4 y Sox2, evitando la presencia de los proto-oncogenes Klf4 y c-Myc y sus posibles efectos dañinos.

En noviembre de 2010, Rossi y colaboradores (33) obtuvieron células iPS a partir de varios tipos de células humanas mediante ARNm sintético modificado (RiPS cells), evitando los peligros de los métodos integrativos de ADN (vectores virales) y logrando superar la eficacia de otros métodos diseñados anteriormente (por ejemplo, uso de proteínas). Ellos sintetizaron ARN modificado correspondiente a los cuatro factores de transcripción canónicos utilizados inicialmente por Yamanaka: Klf4, c-Myc, Oct4 y Sox2 y en un experimento posterior añadieron el ARN modificado correspondiente a un quinto factor (Lin28 de Thomson). Los métodos utilizados no son mutagénicos y son altamente controlables. Además, la utilización de ARN modificado plantea la posibilidad de utilizar esta nueva tecnología para dirigir la diferenciación de las células iPS obtenidas (RiPS) en el tipo celular deseado. Por ejemplo, los mismos autores, utilizando ARN sintético modificado que codificaba para el factor de transcripción miogénico MYOD, obtuvieron células miogénicas que originaban miotubos formados por miogenina y miosina.

Aplicación terapéutica en modelo experimental de ratón

En diciembre de 2007, el grupo de Jaenisch hizo público en la revista Science el éxito de la aplicación en ratones de la técnica de Yamanaka para el tratamiento de la anemia falciforme humana en un modelo de ratón utilizando células pluripotentes inducidas (iPS) mediante reprogramación de células de la piel (34). Posteriormente, en 2009, Ward, Ma y colaboradores (35) lograron corregir también en ratones la hemofilia de tipo A (producida por mutación del factor VIII) de manera que al inducir un corte en la cola de ratones inyectados en el hígado con células iPS no sufrían daños importantes mientras que los ratones control no inyectados morían en pocas horas. Al año siguiente, en 2010, el mismo grupo lograba revertir la hiperglicemia en ratones diabéticos de tipos 1 y 2

mediante la obtención y transferencia de células beta pancreáticas a partir de células iPS (36).

En 2010, Yamanaka, Okano y colaboradores (37) obtuvieron neuroesferas “seguras” (que no inducen tumorigénesis) derivadas de células iPS que originaban in vitro neuronas, astrocitos y oligodendrocitos de ratón electrofisiológicamente funcionales. Además, cuando dichas neuroesferas “seguras” eran trasplantadas a la médula espinal de un ratón 9 días después de haberle producido el daño, se diferenciaban en los tres linajes celulares neurales sin formar teratomas ni tumores, participando en la remielización e inducción del recrecimiento axonal de las fibras serotoninérgicas, contribuyendo a la recuperación de la función locomotora.

Aplicación terapéutica en humanos

Estas investigaciones suponen un paso adelante esperanzador en la posible utilización de células iPS en la terapia celular humana del futuro, obviando los problemas éticos de la manipulación de embriones.

La aplicación terapéutica de las células iPS podría plantearse en tratamiento clínicos in vivo sobre los pacientes que necesitarán disponer de las garantías suficientes que eviten efectos secundarios nocivos como puede ser la producción de tumores o en experimentos de laboratorio in vitro según el modelo de “enfermedades en placa petri” que permitan conocer los procesos de la enfermedad o realizar pruebas toxicológicas para el desarrollo de nuevos fármacos.

Efectivamente, en 2008, Eggan y colaboradores (38) lograron mediante la técnica de inducción de células iPS generar in vitro a partir de fibroblastos de piel células nerviosas motoras en un paciente de 82 años que padecía esclerosis lateral amiotrófica (ELA), que son precisamente las células dañadas por la enfermedad. La técnica consistió en introducir en los fibroblastos los genes *Klf4*, *Sox2*, *Oct4* y *c-Myc* utilizando como vector un retrovirus. También Park y colaboradores indujeron la obtención de células iPS en casos de distrofia muscular y de la enfermedad de Huntington (39).

Posteriormente, en 2009, Svendsen y colaboradores (40) obtuvieron células iPS a partir de fibroblastos de piel de un niño afecto de atrofia muscular espinal (AME), enfermedad autosómica recesiva que suele manifestarse a partir de los 6 meses de edad y que produce la muerte del paciente en torno a los dos años. Las células iPS obtenidas generaban neuronas motoras defectuosas de manera que, como dicen los autores del trabajo, se pueden estudiar comparativamente con las células nerviosas homólogas producidas por la madre fenotípicamente sana del niño enfermo y poder así estudiar los mecanismos de la enfermedad. En la técnica

se utilizaron los genes Oct4, Sox2, Nanog y Lin28 que fueron introducidos en los fibroblastos utilizando como vector un lentivirus.

Las células iPS específicas del síndrome de Rett muestran una disminución en la densidad de espinas después de la diferenciación neuronal (41).

La diferenciación de hepatocitos a partir de células iPS en pacientes con deficiencia para la α 1-antitripsina produce una acumulación elevada de lípidos y glicógeno (42).

En 2011, Izpisúa y colaboradores (43) obtuvieron células iPS sanas a partir de fibroblastos de piel de niños que padecían la enfermedad de Hutchinson-Gilford de envejecimiento prematuro (progeria) y que al ser rediferenciadas a células musculares lisas volvían a manifestar las características de la enfermedad (acumulación de progerina y desorganización de la lamina nuclear). Sus investigaciones pueden permitir estudiar las causas del envejecimiento *in vitro*.

Recientemente, también de han utilizado las células iPS en enfermedades de manifestación tardía como la ataxia espinoocerebelar (44), la enfermedad de Alzheimer (45), la enfermedad de Huntington (46) y la enfermedad de Parkinson: en 2012, Izpisúa y colaboradores (47) obtuvieron células iPS a partir de células de la piel de pacientes con la enfermedad de Parkinson comprobando que las células iPS presentaban una anomalía en la membrana nuclear semejante a la que presentaban las células de una muestra post mortem del cerebro de pacientes que habían padecido dicha enfermedad. También se han iniciado estudios con enfermedades complejas como la esquizofrenia (48).

A modo de resumen, en el Cuadro 1 se resumen las investigaciones más importantes descritas anteriormente indicando los autores y las fechas correspondientes:

Cuadro 1.- Células troncales pluripotentes inducidas (iPS).

<i>Células iPS en ratón</i>
Yamanaka (2006, 2008); Jaenisch (2007, 2009); Schöler (2009); Blasco (2009); Ding (2009)
<i>Células iPS humanas</i>
Yamanaka (2007, 2011); Thomson (2007); Park (2008); Jaenisch (2008, 2009); Lowry (2008); Izpisúa Belmonte (2008); Melton (2008); Rossi (2010); Gage (2011)
<i>Aplicaciones terapéuticas en ratón como modelo experimental</i>
Anemia falciforme HbS (Jaenisch, 2007); hemofilia A (Ward y Ma, 2009); diabetes (Ward y Ma, 2010); lesiones en médula espinal (Yamanaka y Okano, 2010)

Aplicaciones terapéuticas en humanos

Esclerosis lateral amiotrófica, ELA (Eggen, 2008); distrofia muscular y enfermedad de Huntington (Park, 2008 y The HD iPSC Consortium, 2012); atrofia muscular espinal, AME (Svendsen, 2009); síndrome de Rett (Marchetto, 2010); deficiencia en α 1-antitripsina (Rashid, 2010); ataxia espinocerebelar (Koch, 2011); progeria (Izpisúa Belmonte, 2011); esquizofrenia (Brennand, 2011); enfermedad de Parkinson (Izpisúa Belmonte, 2012); enfermedad de Alzheimer (Israel, 2012)

La importancia del descubrimiento de la posibilidad de obtener células troncales pluripotentes inducidas (células iP) por reprogramación celular de células somáticas adultas mereció ser seleccionado por la revista Science (49) como el segundo de los diez descubrimientos científicos más importantes del año 2007 y como el más importante del año 2008. Consideraba la revista que la obtención de células iP es el logro de “una hazaña largamente buscada de alquimia celular”: así como los antiguos alquimistas buscaban convertir metales vulgares en oro, los científicos actuales han logrado convertir células humanas diferenciadas en células iP, el equivalente biológico del oro.

Al igual que le ha sucedido al Dr. Ian Wilmut con la clonación en relación con el galardón Nobel concedido al Dr. Gurdon que he comentado anteriormente, el Dr. James A. Thomson ha experimentado una situación análoga por partida doble. En efecto, la historia de la células troncales pluripotentes embrionarias empezó en 1981 cuando Sir Martin J.

Evans –galardonado con el Premio Nobel en Fisiología o Medicina en 2007– logró aislarlas y cultivarlas a partir de embriones de ratón en fase de blastocisto (50). Años más tarde, en 1998, el grupo dirigido por James A. Thomson, de la Universidad de Wisconsin-Madison, consiguió aislar y mantener en cultivo células troncales embrionarias a partir de blastocistos humanos (51), continuando de alguna manera lo que Evans había logrado en ratones en 1981 y abriendo un nuevo campo científico en la Medicina. Este año por segunda vez se ve privado el Dr. Thomson del galardón Nobel a pesar de haber obtenido casi simultáneamente con el Dr. Yamanaka las células troncales pluripotentes inducidas humanas. Como es sabido, la normativa de la Institución Nobel prohíbe dar el mismo premio a más de tres personas, de no tratarse de un colectivo u organización.

Los intentos de abrir las puertas a la clonación humana con fines terapéuticos (obtención de embriones somáticos por transferencia nuclear de células del propio paciente) puede que resulten innecesarios si llega a hacerse una realidad clínica la reprogramación de células somáticas adultas utilizando las técnicas de Yamanaka, Thomson y Jaenisch antes descritas. En este contexto cabe

señalar que el Dr. Ian Wilmut, padre científico de la oveja Dolly, anunció que abandonaba la investigación en clonación terapéutica humana para pasarse a la utilización de la técnica de reprogramación celular de Yamanaka. También José B. Cibelli, uno de los pioneros de la clonación humana (52), se ha manifestado a favor de la nueva técnica de reprogramación mientras que otros científicos siguen aferrándose a la investigación con células troncales embrionarias como a un clavo ardiendo.

Los defensores de continuar investigando con células troncales embrionarias humanas defienden su posición, argumentando que si no hubiera sido por estas investigaciones no se hubiera llegado a conocer el papel de los factores de transcripción Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4, Nanog y Lin28 en el proceso de reprogramación celular de células somáticas adultas.

En el presente contexto, es importante señalar que, según datos de los NIH de los Estados Unidos (53), en diciembre de 2012 se habían registrado en todo el mundo 4118 investigaciones clínicas con células troncales adultas (AS), 24 con células troncales embrionarias (ES) y 19 con células troncales pluripotentes inducidas (iPS) (14 en Estados Unidos, 3 en Israel, 1 en Francia y 1 en Irán). Desde el punto de vista ético resulta interesante resaltar que la comunidad científica parece dispuesta a evitar la utilización de células troncales de embriones humanos (0,6%); incluso, en Estados Unidos hay 14 investigaciones clínicas con células iPS frente a 8 con células ES.

6. REPROGRAMACIÓN DIRECTA

En la década de los sesenta del siglo pasado, Ernst Hadorn (54) introdujo los conceptos de determinación y transdeterminación en sus estudios de genética del desarrollo en *Drosophila*. Según Hadorn, la diferenciación celular se inicia por el proceso de la determinación que programa la célula para su futuro comportamiento en el desarrollo.

En unos casos, la diferenciación celular es inmediata a su determinación mientras que en otros casos la determinación supone un estado celular reproducible propagado durante una fase indiferenciada más o menos larga hasta que en un momento dado esas células determinadas se diferencian. Se entiende por herencia celular a la propiedad individual de las células de mantener y transmitir su estado de determinación. Utilizando en su investigación discos imaginales de *Drosophila* (primordios celulares presentes en las larvas que durante la metamorfosis se transforman en estructuras específicas de la mosca adulta), Hadorn observó que ocasionalmente se podían producir cambios en la herencia celular, de manera que discos imaginales de una cierta estructura adulta

(alas, patas, antenas, ojos, etc.) dan lugar a otra estructura. Al fenómeno que produce tales cambios en la herencia celular se le denomina transdeterminación.

La Institución Nobel (55) recordaba estos datos científicos de hace casi medio siglo por analogía con los procesos de reprogramación directa o transdiferenciación que en la actualidad están llevándose a cabo utilizando técnicas semejantes a las establecidas por Yamanaka.

Efectivamente, un nuevo paso conceptualmente diferente a la técnica de inducción de células troncales pluripotentes (iPS) de Yamanaka lo dio en 2008 el grupo de Douglas A. Melton (56) al reprogramar *in vivo* células adultas de ratón (células exocrinas del páncreas) transformándolas directamente (reprogramación directa o transdiferenciación) en células beta pancreáticas capaces de producir insulina (islotos de Langerhans). Las células obtenidas son indistinguibles de las células beta pancreáticas endógenas, tanto en tamaño como en su forma y estructura. Para ello, utilizaron como vector un adenovirus en el que se habían incorporado tres factores de transcripción (Ngn3, Pdx1 y MafA) que el grupo de Melton había identificado previamente como responsables de la diferenciación de las células beta pancreáticas. El experimento realizado con ratones *in vivo* mostró que las células beta obtenidas mejoraban sensiblemente la condición de hiperglicemia de los ratones diabéticos. No cabe duda que estos resultados son esperanzadores para tratar de curar en el futuro la enfermedad de la diabetes tipo 1 en humanos.

Más tarde, en 2010 y 2011, Wernig y colaboradores (57), partiendo de la hipótesis de que la expresión combinatoria de factores de transcripción específicos del linaje neural podría convertir directamente fibroblastos en neuronas, utilizaron un conjunto de 19 genes candidatos de los que solamente tres factores (Ascl3, Brn2 también denominado Pou3f2 y Myt1l) eran suficientes para convertir con rapidez y eficacia fibroblastos embrionarios y postnatales de ratón directamente en neuronas funcionales *in vitro*. Las células neuronales inducidas (iN) expresan múltiples proteínas específicas de neurona, generan potenciales de acción y forman sinapsis funcionales. Los autores señalaban que la generación de células iN a partir de linajes no neurales podría tener importantes implicaciones tanto en el estudio del desarrollo neural como en el diseño de modelos de enfermedades neurológicas y la Medicina regenerativa.

Bhatia y colaboradores (58) lograron la conversión directa de fibroblastos humanos en células progenitoras hematopoyéticas que daban lugar a linajes granulocíticos, monocíticos, megacariocíticos y eritroides. También en 2010, Ieda y colaboradores (59) transformaron *in vitro* fibroblastos en cardiomiocitos utilizando tres factores de transcripción y en 2012 dos grupos de investigación distintos (60,61) inducían *in vivo* la transformación directa de fibroblastos en cardiomiocitos de ratón utilizando los mismos tres factores de transcripción. Es

importante resaltar que estas investigaciones muestran la posibilidad de lograr la transdiferenciación o reprogramación directa no sólo entre células dentro de una misma capa germinal, sino también entre células de capas germinales diferentes como es el caso de fibroblastos (mesodermo) a neuronas (ectodermo).

La nueva técnica de reprogramación directa se salta el paso intermedio de las células iPS por el que la célula tratada se revierte al estado de maduración de una célula para que sea pluripotente. Es evidente que se ha abierto un nuevo y esperanzador campo para la medicina regenerativa del futuro. Además, como en el caso de la utilización de las células troncales adultas (AS) y las células troncales pluripotentes inducidas (iPS), se obvian los problemas éticos que plantea la utilización de las células troncales pluripotentes embrionarias (ES).

7. EPIGÉNESIS

En el presente contexto, me parece interesante hacer un breve comentario sobre la epigénesis, teniendo en cuenta que su significado ha tenido algunas variaciones a lo largo del tiempo. La Genética del Desarrollo estudia los procesos genéticos que controlan el paso de cigoto a adulto. Las concepciones clásicas de preformación (Hartsoecker, 1695) y epigénesis (Wolff, 1759) encuentran una base genética en su sentido conceptual por cuanto, por un lado, el cigoto reúne ya en forma de ADN lo que ha de ser el nuevo individuo (preformación) y, por otro lado, esa información genética controla espacial y temporalmente los procesos que constituyen las sucesivas etapas del desarrollo como liberación de las potencialidades contenidas en la célula inicial única (epigénesis) (62).

En Embriología, por “epigénesis” – en contraposición a la “preformación”– se entiende la teoría de que las estructuras nuevas y los organismos se desarrollan a partir de una masa indiferenciada original de materia viva en el curso del desarrollo embrionario. Waddington (63) definió ya en los años 1939 y 1940 la “epigenética” como la rama de la Biología que se ocupa del análisis causal del desarrollo, definiendo a su vez el “epigenotipo” como el sistema de desarrollo total que está compuesto por series de desarrollo interrelacionadas a través de las cuales se realiza la forma adulta de un organismo y que comprende la totalidad de las interacciones entre los genes y entre los genes y el ambiente no genético que da como resultado el fenotipo (“epifenotipo”). El epigenotipo de una célula es un carácter estable y heredable, al menos durante muchas generaciones celulares, cuyo modo de impresión está por encima o además del genotipo clásico, esto es, la secuencia de bases del ADN (64).

En tiempos recientes ha surgido dentro de la Genética un nuevo concepto de “epigenética”(65) en relación con los mecanismos genéticos que influyen en el fenotipo sin alterar las secuencias del ADN, siendo la metilación del ADN

(generalmente de las citosinas) uno de los mecanismos epigenéticos más importantes (patrón de metilación del ADN o metiloma).

Mecanismos epigenéticos son también las alteraciones de la estructura o remodelación de la cromatina por modificación de las histonas (metilación, acetilación, fosforilación) (66). La estructura local de la cromatina es un estado epigenético que puede cambiar de forma reversible por diversos tipos de mecanismos (remodelación de la cromatina). El hecho de que la actividad génica diferencial –a la que hacíamos referencia al definir el concepto genético de desarrollo– no implique cambios en la secuencia original del ADN explica por qué son posibles los mecanismos de reprogramación celular tales como la clonación por transferencia nuclear y la inducción de células troncales pluripotentes que han sido objeto del Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012.

En mi opinión, la confusión que en ocasiones se produce en el debate actual sobre lo que se denomina el “estatuto del embrión humano” es que se argumenta que el simple programa genético que contiene el cigoto producido por la fecundación de los gametos es necesario pero no suficiente para que se realice el proceso de desarrollo ya que son necesarios también los fenómenos epigenéticos como, por ejemplo, el silenciamiento de la expresión de los genes por la metilación de su ADN, pero manteniendo la secuencia original del ADN que constituye el programa genético del organismo reunido en el cigoto tras el proceso de fecundación de los gametos.

8. EPÍLOGO

Una vez más, puedo terminar mi intervención en la Sesión Científica que la Real Academia Nacional de Farmacia dedica a glosar los Premios Nobel concedidos en el año mostrando mi orgullo de pertenecer a un ámbito del conocimiento científico como es la Genética merecedora del más alto reconocimiento como son los premios Nobel.

Así pues, repitiendo y actualizando lo que he venido diciendo en otras ocasiones, hoy, en 2012, podemos estar orgullosos los amantes de la Genética porque ya son 40 las veces en que el galardón Nobel ha correspondido a 89 científicos del campo de la Genética o ciencias afines.

De los 40 premios considerados, 31 pertenecen al ámbito de la Fisiología o Medicina, 8 a la Química y 1 de la Paz y, a su vez, de los 89 científicos galardonados, 70 corresponden a premios de Fisiología o Medicina, 18 de Química y 1 de la Paz.

Finalmente, me gustaría destacar que en los doce años transcurridos del siglo XXI se ha premiado la investigación genética en doce ocasiones: 2001, 2002, 2004, dos en 2006, 2007, dos en 2008, dos en 2009, 2011 y en 2012. Sin duda, es una década prodigiosa para la Genética como una Alicia en el “País de las

maravillas moleculares” que diría Lewis Carroll. En 1995 inicié con mi discurso de ingreso en esta Real Academia (67) la historia “*nobelada*” de la Genética que tuve la oportunidad de actualizar doce años después (68), en 2007, y que he puesto al día en 2012. No obstante, al paso que vamos, es posible que pronto se vuelva a quedar viejo.

Permítaseme finalizar esta intervención preguntándome en voz alta ¿para cuándo espera la Institución Nobel premiar la investigación genómica? En mi opinión, de los grandes temas actuales de investigación dentro de la Genética, la Genómica es el único que falta por recibir el galardón Nobel. En ocasiones anteriores me he atrevido a citar a científicos como Craig J. Venter y Francis Collins como merecedores del premio Nobel. Me pregunto si la controvertida personalidad del primero puede ser la causa de que se esté retrasando la decisión porque es evidente que no se puede premiar este campo de la investigación genética dejando fuera al Dr. Venter. El tema es de urgente solución porque, como decían Lander y Weinberg en un artículo publicado en la revista “*Science*” (68), la Genómica ocupa hoy día el centro de la Biología (“*Genómica: viaje al centro de la Biología*”, parafraseando el título de la conocida novela de Julio Verne). En la misma línea apuntan las palabras de Victor McKusick (69), uno de los grandes científicos en el campo de la Genética Humana, cuando decía:

“los laboratorios genómicos serán el lugar de formación de los científicos del futuro: nueva raza de científicos preparados para capitalizar tanto la revolución de la Genética Molecular como la revolución de la computación. Ellos serán los líderes de la Biología del siglo XXI”.

9. REFERENCIAS

1. Lacadena, J.R.; Genética (4ª edición, Capítulo XIX); AGESA; Madrid, 1988; p 931-1057.
2. Gurdon, J.B.; Melton, D.A. Nuclear reprogramming in cells. *Science* 322, 1811-1815 (2008).
3. Ford, M. Science magazine’s top 10 breakthroughs of the year, *Science* (2008).
4. Briggs, R.; King, T.J. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frog eggs. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 38, 455-463 (1952). Briggs, R.; King, T.J. Factors affecting the transplantability of nuclei of frog embryonic cells. *J. exp. Zool.* 122, 485-506 (1953). King, T.J.; Briggs, R. Changes in the nuclei of differentiating gastrula cells, as demonstrated by nuclear transplantation. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 41, 321-325 (1955). Briggs, R.; King, T.J. Nuclear transplantation studies on the early gastrula (*Rana pipiens*). I. Nuclei of presumptive endoderm. *Devel. Biol.* 2, 252-270 (1960). Di Berardino, M.A.; King, J.T. Development and cellular differentiation of neural nuclear transplants of known karyotype. *Devel. Biol.* 15, 102-128 (1967).
5. Gurdon, J.B. Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells. *Devel. Biol.* 4, 256-273 (1962).
6. Elsdale, T.R.; Fischberg, M.; Smith, S. A mutation that reduces nucleolar number in *Xenopus laevis*. *Exp. Cell Res.*, 14:642-643 (1958).

7. Kobel, H.R.; Brun, R.B.; Fischberg, M. Nuclear transplantation with melanophores, ciliated epidermal cells, and the established cell line A-8 in *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 29, 539-547 (1973).
8. Di Berardino, M.A.; Hoffner, N.J. The current status of cloning and nuclear reprogramming in amphibian eggs. En *Differentiation and Neoplasia (Results and Problems in Cell Differentiation, vol. 11)*; (edited by McKinell, R.G.; Di Berardino, M.A.; Blumenfeld, M.; Bergard, R.D., Eds.; Springer Verlag; Berlin, 1980; p 53-64.
9. Frisé, J.; Lendahl, U.; Perimann, T. Mature cells can be reprogrammed to become pluripotent. The 2012 Nobel Prize in Physiology or Medicine – Advanced Information. <http://Nobelprize.org> (2012)
10. Waddington, C.H. *The strategy of the genes; a discussion of some aspects of theoretical biology*; Allen & Unwin; Londres, 1957.
11. McGrath, J.; Solter, D. Inability of mouse blastomere nuclei transferred to enucleated zygotes to support development in vitro. *Science* 226, 1317-1318 (1984).
12. Wilmut, I.; Schnieke, A.E.; McWhir, J.; Kind, A.J.; Campbell, K.H.S. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385, 810-813 (1997).
13. Lacadena, J.R. *Genética y Sociedad*. Real Acad. Nac. Farmacia; Madrid, 2011; p. 147. (El contenido de este apartado está necesariamente basado, aunque debidamente actualizado, en el texto publicado dentro del Discurso leído por el autor en la Sesión Inaugural del Curso de la Real Academia Nacional de Farmacia celebrada el 13 de enero de 2011).
14. Ver revisiones por Hochedlinger, K.; Plath, K. Epigenetic reprogramming and induced pluripotency. *Development* 136, 509-523 (2009). Izpisúa Belmonte, J.C.; Ellis, J.; Hochedlinger, K.; Yamanaka, S. Induced pluripotent stem cells and reprogramming: seeing the science through the hype. *Nature Reviews Genetics* 10, 878-883 (2009). Hochedlinger, K. El poder terapéutico de nuestras células. *Investigación y Ciencia* (julio 2010), 24-31 (2010).
15. Takahashi, K.; Mitsui, K.; Yamanaka, S. Role of Eras in promoting tumour-like properties in mouse embryonic stem cells. *Nature* 423, 541-545 (2003).
16. Mitsui, K.; Tokuzawa, Y.; Itoh, H.; Segawa, K.; Murakami, M.; Takahashi, K. et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 113, 631-642 (2003).
17. Chambers, I.; Colby, D.; Robertson, M.; Nichols, J.; Lee, S.; Tweedie, S. et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell* 113, 643-655 (2003).
18. Tada, M.; Takahama, Y.; Abe, K.; Nakatsuji, N.; Tada, T. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. *Curr. Biol.* 11, 1553-1558 (2001).
19. Takahashi, K.; Yamanaka, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663-676 (2006).
20. Yamanaka, S. Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 1, 39-49 (2007).
21. Maherali, N.; Sridharan, R.; Xie, W.; Utikal, J.; Eminli, S.; Arnold, K.; Stadtfeld, M.; Yachenko, R.; Hieu, J. T.C.; Jaenisch, R.; Plath, K.; Hochedlinger, K. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodelling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell* 1, 55-70 (2007). Wernig, M.; Meissner, A.; Foreman, R.; Brambrink, T.; Ku, M.; Hochedlinger, K.; Bernstein, B.E.; Jaenisch, R. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* 448, 318-324 (2007).
22. Okita, K.; Ichisaka, T.; Yamanaka, S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 448, 313-317 (2007).

23. Marion, R.M.; Strati, K.; Li, H.; Tejera, A.; Schoeftner, S.; Ortega, S.; Serrano, M.; Blasco, M.A. Telomeres acquire embryonic stem cells characteristics in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 4, 141-154 (2009).
24. Maekawa, M.; Yamaguchi, K.; Nakamura, T.; Shibukawa, R.; Kodanak, I.; Ichisaka, T.; Kawamura, I.; Mochizuki, H.; Goshima, N.; Yamanaka, S. Direct reprogramming of somatic cells is promoted by maternal transcription factor Glis1. *Nature* 474, 225-229 (2011).
25. Okita, K.; Nakawaga, M.; Hyenjong, H.; Ichisaka, T.; Yamanaka, S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* 322, 949-953 (2008).
26. Carey, B.W.; Markoulaki, S.; Hanna, J.; Saha, K.; Gao, Q.; Mitalipova, M.; Jaenisch, R. Reprogramming of murine and human and somatic cells using a single polycistronic vector. *Proc Nat Acad Sci.* 106, 157-162 (2009).
27. Huangfu, D.; Osafune, K.; Maehr, R.; Go, W.; Eijkelenboom, A.; Chen, S.; Muhlestein, W.; Melton, D.A. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nature Biotechnology* 26, 1269-1275 (2008).
28. Kim, J.B.; Sebastiano, V.; Wu, G.; Araúzo-Bravo, M.J.; Sasse, P.; Gentile, L.; Ko, K.; Ruau, D.; Ehrich, M.; van den Boom, D.; Meyer, J.; Hübner, K.; Bernemann, C.; Ortmeier, C.; Zenke, M.; Fleischmann, B.K.; Zaehres, H.; Schöler, H.R. Oct4-induced pluripotency in adult neural stem cells. *Cell* 136, 411-419 (2009).
29. Zhou, H.; Wu, S.; Joo, J.Y.; Zhu, S.; Han, D.W.; Lin, T.; Trauger, S.; Bien, G.; Yao, S.; Zhu, Y.; Siuzdak, G.; Schöler, H.R.; Duan, L.; Ding, S. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins. *Cell Stem Cell* doi: 10.1016/j.stem.2009.04.005 (2009).
30. Yu, J.; Vodyanik, M.A.; Smuga-Otto, K.; Antosiewicz-Bourget, J.; Frane, J.L.; Tian, S.; Nie, J.; jonsdottir, G.A.; Ruotti, V.; Stewart, R.; Slukvin, I.I.; Thomson, J.A. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318,1917-1920 (2007).
31. Takahashi, K.; Tanabe, K.; Ohnuki, M.; Narita, M.; Ichisaka, T.; Tomoda, K.; Yamanaka, S. Induction of pluripotent cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131, 1-12 (2007).
32. Aasen, T.; Raya, A.; Barrero, M.J.; Garreta, E.; Consiglio, A.; González, F.; Vassena, R.; Bilic, J.; Pekarik, V.; Tiscornia, G.; Edel, M.; Boué, S.; Izpisua Belmonte, J.C. Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes. *Nature Biotechnology* 26, 1276-1278 (2008).
33. Warren, L.; Manos, P.D.; Ahfeldt, T.; Loh, Y-H.; Li, H.; Lau, F.; Ebina, W.; Mandal, P.K.; Smith, Z.D.; Meissner, A.; Daley, G.Q.; Brack, A.S.; Collins, J.J.; Cowan, C.; Schlaeger, T.M.; Rossi, D.J. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 7, 1-13 (2010).
34. Alipio, Z.; Liao, W.; Roemer, E.J.; Waner, M.; Fink, L.M.; Ward, D.C.; Ma, Y. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic β -like cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, doi: 10.1073/pnas. 1007384107 (2010).
35. Xu, D.; Alipio, Z.; Fink, L.M.; Adcock, D.M.; Yang, J.; Ward, D.C.; Ma, Y. Phenotypic correction of murine hemophilia A using an iPS cell-based therapy. *Proc Nat Acad Sci* 106, 808-813 (2009).
36. Alipio, Z.; Liao, W.; Roemer, E.J.; Waner, M.; Fink, L.M.; Ward, D.C.; Ma, Y. Reversal of hyperglycemia in diabetic mouse models using induced-pluripotent stem (iPS)-derived pancreatic β -like cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* doi:10.1073/pnas. 1007384107 (2010).
37. Tsuji, O.; Miura, K.; Okada, Y.; Fujiyoshi, K.; Mukaino, M.; Nagoshi, N.; Kitamura, K.; Kumagai, G.; Nishino, M.; Tomisato, S.; Higashi, H.; Nagai, T.; Katoh, H.; Kohda, K.; Matsuzaki, Y.; Yuzaki, M.; Ikeda, E.; Toyama, Y.; Nakamura, M.; Yamanaka, S.; Okano, H. Therapeutic potential of appropriately evaluated safe-induced pluripotent stem cells for spinal cord injury. *Proc. Nat. Acad. Sci.* doi: 10-1073/pnas.0910106107 (2010).
38. Dimos, J.T.; Rodolfa, K.T.; Niakan, K.K.; Weisenthal, L.M.; Mitsumoto, H.; Chung, W.; Croft, G.F.; Saphier, G.; Leibel, R.; Golland, R.; Wichterl, H.; Henderson, E-CE.; Eggan, K. Induced

- pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science* 321, 1218-1221 (2008).
39. Park, I.H. et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 134, 877-886 (2008).
 40. Ebert, A.D.; Yu, J.; Rose Jr, F.F.; Mattis, V.B.; Lorson, C.L.; Thomson, J.A.; Svendsen, C.N. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 457, 277-281 (2009).
 41. Marchetto, M.C.N.; Carromeu, C.; Acab, A.; Yu, D.; Yeo, G.W. ; Mu, Y.L. et al. A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human induced pluripotent stem cells. *Cell* 143, 527-539 (2010).
 42. Rashid, S.T.; Corbineau, S.; Hannan, N. ; Marciniak, S.J. ; Miranda, E. ; Alexander, G. et al. Modeling inherited metabolic disorders of the liver using human induced pluripotent stem cells. *J. Clin. Invest.* 120, 3127-3136 (2010).
 43. Liu, G-H.; Barkho, B.Z.; Ruiz, S.; Diep, D.; Qu, J.; Yang, S-L.; panopoulos, A.D.; Suzuki, K.; Kurian, L.; Walsh, C.; Thompson, J.; Boue, S.; Fung, H.L.; Sancho-Martínez, I.; Zhang, K.; Yates, J. III; Izpisua Belmonte, J.C. Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* doi:10.1038/nature09879 (2011)
 44. Koch, P.; Breuer, P.; Peitz, M.; Jungverdorben, J. ; Kesavan, J.; Poppe, D. et al. Excitation-induced ataxin-3 aggregation in neurons from patients with Machado-Joseph disease. *Nature* 480, 543-546 (2011).
 45. Israel, M.A.; Yuan, S.H.; Bardy, C.; Reyna, S.M.; Mu, Y.; Herrera, C. et al. (2012) Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature* 482, 216-220 (2012).
 46. The HD iPSC Consortium. Induced pluripotent stem cells from patients with Huntington's disease show CAG-repeat-expansion-associated phenotypes. *Cell Stem Cell* 11, 264-278 (2012).
 47. Liu, G-H; Qu, J.; Suzuki, K.; Nivet, E.; Li, M.; Montserrat, N.; Yi, F. ; Ruiz, X.S. ; Zhang, W. ; Wagner, U.; Kim, A.; Ren, B.; Li, Y.; Goebel, A.; Rupa, J.K.; Soligalla, D.; Dubova, I.; Thomson, J.; Yates III, J.; Rodriguez, G.; Sancho-Martínez, E.I.; Izpisua Belmonte, J.C. Progressive degeneration of human neural stem cells caused by pathogenic LRRK2. *Nature* doi:10.1038/nature 11557 (2012).
 48. Brennand, K.J.; Simone, A.; Jou, J.; Gelboin-Burkhardt, C.; Tran, N.; Sanger, S. et al. Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature* 473, 221-225 (2011).
 49. Kennedy, D. Editorial. Breakthrough of the year. *Science* 318:1833 (2007). Ford, M. Science magazine's top 10 breakthroughs of the year. *Science* (2008).
 50. Evans, M.J.; Kaufman, M.H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292, 154-156 (1981).
 51. Thomson, J.A.; Itskovitz-Eldor, J.; Shapiro, S.S.; Waknitz, M.A.; Swiergiel, J.J.; Marshall, V.S.; Jones, J.M. Embryonic stem cells derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145-1147 (1998).
 52. Cibelli, J.B.; Kiessling, A.A.; Cunniff, K.; Richards, C.; Lanza, R.P.; West, M.D. Somatic cell nuclear transfer in humans: Pronuclear and early embryonic development. *E-biomed: The Journal of Regenerative Medicine* 2, 25-31 (2001). Cibelli, J.B.; Lanza, R.P.; West, M.D.; Ezzell, C. The first human cloned embryo. *Scient. Am.* 286, 42-49 (2002).
 53. NIH. <http://www.ClinicalTrials.gov> (diciembre 2012)
 54. Hadorn, E. Problems of determination and transdetermination. *Brookhaven Symp. Biol.* No. 18 (Genetic control of differentiation), 148-161 (1965).
 55. Frisén, J.; Lendahl, U.; Perimann, T. Mature cells can be reprogrammed to become pluripotent. The 2012 Nobel Prize in Physiology or Medicine – Advanced Information. <http://Nobelprize.org> (2012)

56. Zhou, Q.; Brown, J.; Kanarek, A.; rajagopal, J.; Melton, D.A. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *Nature* 455, 627-632 (2008).
57. Vierbuchen, T.; Ostermeier, A.; Pang, Z.P.; Kokubu, Y.; Sudohf, T.C.; Wernig, M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature online* doi: 10.1038/nature 08797 (2010). Pang, Z.P.; Yang, N.; Vierbuchen, T.; Ostermeier, A.; Fuentes, D.R.; Yang, T.Q. et al. Induction of human neuronal cells by defined transcription factors. *Nature* 476, 220-223 (2011).
58. Szabo, E.; Rampalli, S.; Risueño, R.M.; Schnerch, A.; Mitchell, R.; Fiebig-Comyn, A.; Levadoux-Martin, M.; Bhatia, M. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature on line* doi:10.1038/nature 09591 (2010).
59. Ieda, M.; Fu, J.D.; Delgado-Olguin, P.; Vedantham, V.; Hayashi, Y.; Bruneau, B.G. et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell* 142, 375-386 (2010).
60. Song, K.H.; Nam, Y.J.; Luo, X.; Qi, X.X.; Tan, W.; Huang, G.N. et al. Heart repair by reprogramming non-myocytes with cardiac transcription factors. *Nature* 485, 599-604 (2012).
61. Qian, L.; Huang, Y.; Spencer, C.I.; Foley, A.; Vedantham, V.; Liu, L. et al. In vivo reprogramming of murine cardiac fibroblasts into induced cardiomyocytes. *Nature* 485, 593-598 (2012).
62. Lacadena, J.R. *Genética* (4ª edición, Capítulo XIX), AGESA; Madrid, 1988; p 931-1057.
63. Waddington, C.H. *An introduction to modern Genetics*, Allen & Unwin; Londres, 1939. Waddington, C.H. The genetic control of wing development in *Drosophila*. *J. Genet.* 41, 75 (1940).
64. Rieger, R.; Michaelis, A.; Green, M.M. *Glossary of Genetics and Cytogenetics* (4th edition); Springer Verlag; Berlin-Heidelberg-Nueva York, 1976 (existe una traducción en español por M.J. Puertas, Editorial Alhambra, 1982).
65. Passarge, E. *Color atlas of Genetics* (3rd Edition, revised and updated); Thieme; Stuttgart, Nueva York, 2007.
66. Lacadena, J.R. Historia "nobelada" de la Genética: Concepto y Método; Discurso leído en la Sesión del 14 de diciembre de 1995 para su ingreso como Académico de Número de la Real Academia de Farmacia; Madrid, 1995; p 76.
67. Lacadena, J.R. Conmemorando los 100 años del término "Genética" (1905-2005): Una historia "nobelada" de la Genética, Conferencia Plenaria pronunciada en el Congreso de la Sociedad Española de Genética, Almería 2005. Universidad de León, Secretariado de Publicaciones; 2007; p 109.
68. Lander, E.S.; Weinberg, R.A. Genomics: journey to the center of Biology. *Science* 287, 1777-1782 (2000).
69. McKusick, V. The Human Genome Project: Plans, status and applications in Biology. En *Gene mapping. Using law and ethics as guides*; Annas, G.J.; Elias, S. Eds; Oxford University Press; Oxford, 1992; p 18-42.



PUBLICACIONES ELECTRÓNICAS DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA