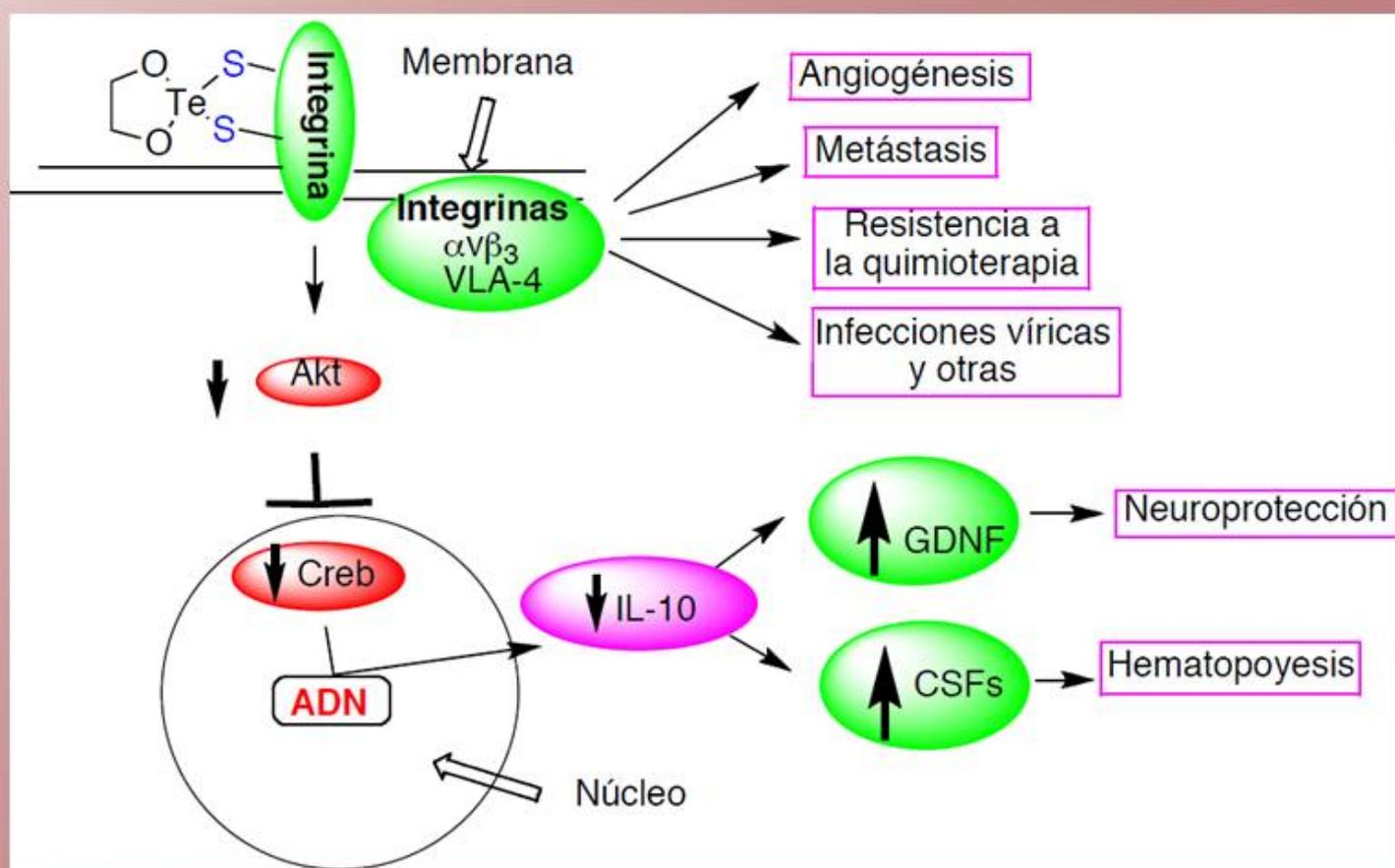


ANALES DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

Volumen 79 | Número 2 | Abril-Junio 2013 | Páginas 175-382



www.analesranf.com

ISSN 1697-4271



REAL ACADEMIA
NACIONAL DE
FARMACIA



Instituto
De España



Ministerio de
Educación Cultura
y Deporte

Publicación científica electrónica trimestral

Madrid, Spain



La Farmacia y la Medicina en áreas aisladas deprimidas del centro de Yucatán

Dr. Bartolomé Ribas Ozonas

Académico Secretario de la Real Academia Nacional de Farmacia. Farmacéutico y médico.

Escribo esta Editorial, porque un compañero académico me dijo: “es tu deber y el de la Academia el difundir las condiciones sanitarias en las que viven algunos ciudadanos del Mundo. Por eso, esta Academia, en su página Web, creó el portal de “Enfermedades Olvidadas” y además, debemos de mostrar que nuestra vocación es la de estar al servicio de la sociedad”. Como farmacéuticos y sanitarios es la labor en ayuda a los más necesitados uno de los fines de la Real Academia Nacional de Farmacia.

En España, vivimos numerosas demostraciones de ayuda a los demás, tanto a nivel nacional como también en diversos países de nuestro planeta. Tanto da que sean de un signo u otro. Los ciudadanos españoles, como el que esto subscribe, observamos en nuestra vida cotidiana, que hay que ayudar, y eso es lo que venimos haciendo. Soy uno más de los miles de ciudadanos españoles que ayudan a nuestros semejantes en áreas pobres, deprimidas, algunas de ellas aisladas, aunque no olvidadas por las instituciones gubernamentales y oficiales. Pues en esas áreas, aunque disponen de colegios y servicios sanitarios, son pobres y muy desatendidos, pues carecen de médico, farmacias, y servicios, y todo ello ocurre en los cinco continentes.

Dicho esto, relato mi experiencia personal en una ONG médica, organizada por dos sacerdotes Legionarios de Cristo, y el Obispo de Cancún-Chetumal, en el Yucatán, México, y que se inició el primer año 2005, en la periferia de Sao Paulo, cuando me jubilé de Jefe de Área de Toxicología Ambiental en el Instituto de Salud Carlos III, de Madrid.

En esa ONG, contribuimos a la cooperación internacional con la población necesitada en países en vía de desarrollo. Aunque México es en sí mismo un país desarrollado, como en todos los países del mundo existen áreas deprimidas y pobres, y la del centro de Yucatán, en el Caribe, es una de ellas. Existe un gran desequilibrio entre la periferia, la llamada “Riviera Maya”, y la población autóctona del interior. Es decir, entre la población turística en hoteles de la costa, y los

indígenas a pocos kilómetros en el interior. Este hecho, anima a las conciencias a la búsqueda del equilibrio y al apoyo a esa población en su primera necesidad personal, su salud.

De Madrid al Centro de Yucatán, México, pasando por Sao Paulo, Brasil (2005)

A finales del año 2004, recibí una llamada de uno de mis tres hijos que vivían en Alemania, en Düsseldorf, me dijo: “Papá, como eres médico y conoces Brasil, podrías acompañar a un grupo de médicos alemanes que van a Itapeperica da Serra, en Sao Paulo, a una zona donde carecen de él”. Lo que propone una hija generalmente se suele aceptar, y así me embarqué. No conocía al grupo, y quedamos encontrarnos en el avión de Frankfurt a Sao Paulo, ya que desde Madrid, era preceptivo en aquel vuelo y año la escala en Frankfurt.

Una vez en el avión, dije a la azafata que si viese a un grupo de alemanes en el que probablemente iba un sacerdote, me avisara. Creí que se había olvidado, pero al poco de estar el avión en línea de vuelo, se acerca y comenta que ha localizado al grupo alemán y que espere a saludarles a que desaparezca la señal luminosa de cinturones de seguridad. Estaban en la fila 43, lo que hice más tarde y tomamos el primer contacto.

Había avisado de mi viaje al catedrático de Bioquímica *brasileiro*, académico correspondiente de nuestra Real Academia Nacional de Farmacia, que desde el año 1980 hasta el 2005, había venido cada año un mes a mi laboratorio, primero del centro coordinado: Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Departamento de Bioquímica, de la Facultad de Farmacia, y después, al del Instituto de Salud Carlos III, de Madrid. Esta vez, volvía a Sao Paulo, no en mi condición de científico, sino de médico. Me comentó que íbamos a una zona difícil y nos recogería en el Aeropuerto de Sao Paulo para acompañarnos a nuestro destino. Me sorprendió que acudiera, y además, con un compañero abogado, pues veinte días después, el que suscribe estaba invitado para dos conferencias: una en el Campus de Botucatú de la UNESP, y otra, en la Facultad de Derecho de Baurú, ambas sobre campos electromagnéticos en biomedicina. Su compañero abogado era de ascendencia asturiana, y él gallega.

Viajábamos en dos furgonetas y el que esto escribe en el coche del abogado y profesor *brasileiro*. La policía detuvo la caravana pues la consideraba sospechosa. Gracias a la casualidad de que el compañero abogado era de la misma ciudad que uno de los policías, y evitando tal vez complicaciones mayores y formalidades, tuvimos la suerte de que abriera de nuevo el camino hacia la periferia de la ciudad, a una residencia del Obispado.

Instalados en Itapeperica da Serra, los aparatos de electrocardio-encéfalo- y de eco-grafías en el ambulatorio de la zona, con un letrado que había sido costeadado en parte por la Comunidad de Castilla-León, desaparecieron al día siguiente. Sin

embargo, inopinadamente, los reinstalaron 24 horas después. Nos indicaron, que estos aparatos no hubiesen sido devueltos si no hubiéramos sido un grupo que íbamos a ayudarles desinteresadamente. Me sorprendió que, en sus alrededores, se vieran cabinas de la española “Telefónica” con su teléfono, impecable.

Cierto día mientras se revisaban a las mujeres en ginecología, salimos cuatro compañeros de la ONG a dar un paseo por los alrededores del poblado. Al regresar, nos dijeron que habían salido las que nos ayudaban del pueblo a buscarnos, y que no nos había pasado nada dado que pertenecíamos al ambulatorio. El ambulatorio era peculiar para un español como el que suscribe, pues tenía dos funciones, estar al servicio médico de la población y ser “Jardín de Infancia”. Todo ello regido por la Iglesia Católica. Al despedirnos, los médicos compartimos una fiesta con los infantes, que cantaron y bailaron para nosotros. La Iglesia Católica hace un buen servicio a la población de Itapecerica da Serra. Desde nuestra Residencia del Obispado hasta el ambulatorio -unos 5 kilómetros- conté unas 30 capillas de hermandades diferentes.

Al año siguiente, el programa se gestionó en la zona deprimida del centro de Yucatán (México) con diferencias y contrastes más acusados, dado que en este área se habita en chozas (prototipo anterior al tipo “favela” de Itapecerica da Serra, de la periferia de Sao Paulo).



Figura 1.- Península del Yucatán

De Madrid a Yucatán, México (a partir de 2007)

Fui a Quintana Roo, donde realizamos la misión anual, promovida por el obispo mexicano de Cancún-Chetumal Dr. Pedro Pablo Elizondo, y organizada a pie de campo por el padre de origen español Higinio Izquierdo, y en Alemania por el Padre Bennet Tierney de origen irlandés. El objetivo, es ayudar en el ámbito de la salud a la población maya, difuminada todavía en esta época del siglo XXI en la selva (Figura 1). Sorprendentemente a pocos kilómetros de la tan conocida y desarrollada “Riviera Maya” con hoteleros americanos y españoles, entre ellos catalanes y mallorquines, como es el que esto escribe.

La satisfacción personal se encuentra en la ayuda a una población desperdigada en la selva, que acude a los pueblos o andurriales en los que nos instalamos uno o varios días, en el interior de la Península de Yucatán (en el centro de los Estados de Felipe Carrillo Puerto y José María Morelos), como se observa en la Figura 1. Se trata de una zona de elevado porcentaje de pobreza y marginación del Estado mexicano de Quintana Roo. Gran parte de las comunidades no cuentan con servicios de agua potable, alcantarillado, ni saneamiento. La población de los municipios visitados, de Tulum, Felipe Carrillo Puerto y José María Morelos es joven, y en cuanto a la distribución por sexo, no hay diferencia significativa en porcentaje, entre el número de hombres y mujeres.

Me proporciona un enriquecimiento personal y humano. Se adquiere una gran motivación por el impacto de las personas que acuden y a las que se puede ayudar, a sus vidas, sufrimientos, inquietudes y problemas. La predisposición personal por la propia decisión de estar allí, a pesar del calor y trabajo. El entusiasmo en ayudar, en ser útil y eficaz a los enfermos, no disminuye durante la estancia, porque la “acción” es provechosa y beneficiosa. Un trabajo de “ayuda” es implicarse con los ciudadanos, cargar en parte con sus penas y sufrimientos, acumular experiencia, y si es posible curar. Es gratificante por el agradecimiento de las personas. Cuentan con nuestra vuelta, pues decían: ¿Doctor cuando van a volver ustedes?

Hemos ejercido nuestra Misión Médica en los pueblecitos de Kantunilkin, Chanchen, Chunhuhub, Tihosuco, Sacalaca, Limones, Señor, Dzulá y en la isla de Cozumel. Visitamos chozas y casas en el pueblo donde algunos familiares estaban impedidos; o andurriales de varios cientos de personas, con cierto índice de malformaciones por endogamia. La Misión médico-humanitaria anual se desarrolla entre los días 15 de febrero a 5 de marzo. El centro de la misión suele ser Felipe Carrillo Puerto, cercano al Área de Belice y Guatemala, y como somos ambulantes, suele variar cada año.

Las comunidades indígenas visitadas suelen ser las mismas, con pocas variaciones cada año, para conocer y ayudar en la evolución patológica de los

pacientes. Por necesidad de algunos casos, la organización incluye nuevas comunidades indígenas, todas ellas en situación socio-económica deficiente y con una numerosa población infantil.

Las viviendas suelen ser chozas como la mostrada en la Figura 2. En su mayoría, el piso es de tierra y de una sola habitación, donde duerme la familia (de una a tres generaciones). Se cocina fuera con leña, en el mismo suelo, y las personas circundantes respiran la carbonilla desprendida, que induce a diversos tipos de trastornos pulmonares (bronquitis, bronquiolitis, neumoconiosis, y de vías respiratorias altas, etc.) por ser su efecto cotidiano. Y además ingieren una dieta homogénea, con escaso contenido de vitaminas y minerales.



Figura 2.- Choza típica del Yucatán.

El hecho de no poseer instalaciones sanitarias que funcionen correctamente y escasez de agua potable, la cual los indígenas tienen que ir a buscar a veces lejos y con dificultad, se añade a lo hasta ahora mencionado. Así, podemos hacernos una idea de las difíciles condiciones de vida de estas comunidades, aunque es paliado por la disposición de autoridades estatales, con escuela y de algún centro sanitario, en los que suelen dispensar insulina y reciben algunos cuidados médicos, aunque están muy lejos de sus dispersas viviendas en la selva. A los centros sanitarios pueden acudir los pacientes que padecen diabetes y tienen que inyectarse insulina. Sin embargo, muchos de ellos no se tratan y otros renuncian al tratamiento por desinformación, falta de conocimientos y de la evolución de su enfermedad. Lo

mismo ocurre con otras enfermedades, como el glaucoma, cataratas, Párkinson y otras degenerativas.

Los niños se hacen notar, son, junto a las madres y los ancianos con dificultades de desplazamiento, una de nuestras prioridades (Figura 3). Si no acuden, somos nosotros, los médicos, que si les recordamos de otros años, acudimos a su encuentro, y nos reciben con un abrazo y profunda alegría. Algunos niños de 10 a 14 años no asisten a la escuela porque desconocen la trascendencia de su formación y también por su lejanía. Se añade a ello, la irresponsabilidad de los padres, capaces de cambiar las horas de formación de sus hijos por cualquier trabajo mínimamente remunerado. El sacerdote organizador avisa con meses de antelación, nuestra visita de atención médica.



Figura 3.- Grupo de niños expectantes a ser atendidos en lugar céntrico.

Para desplazarnos a estos pueblos, lo hacemos en dos furgonetas; una camioneta porta las cajas de medicamentos, desde nuestra residencia hasta las zonas de visita, a distancias de 120 a 160 kilómetros. La misión es corta, algo más de 2 semanas, por el ajetreo que conlleva: levantarse pronto, con Misa opcional, y acostarse tarde, según el número de enfermos y el largo viaje de regreso.

Carencias y necesidades de la Población. (Patologías, desinformación, educación)

Durante los años de misión médico-clínica que he realizado, he observado que además de los factores higiénico-sanitarios, de temperatura elevada, oscuridad en las chozas, escasa higiene y falta de agua y productos sanitarios, hay que contar

con el desconocimiento de las implicaciones sanitarias ocasionadas por la falta de higiene en general, educación sexual o educación en el cuidado, higiene y nutrición de los hijos. Observamos numerosas infecciones dérmicas generalizadas, micosis, infecciones vaginales, y pocas venéreas. También hemos observado irritaciones oculares derivadas del humo desprendido al cocinar siempre con leña.

La mayoría de las veces, informamos sobre dieta y alimentación, con el interés especial de ingerir ensalada, necesaria para las necesidades en vitaminas y sales minerales.



Figura 4.- Atención a pacientes en consulta.

También se pueden diagnosticar enfermedades neurológicas, como Párkinson o Corea sin tratamiento. Algunos pacientes desconocen su padecimiento, y al comunicársele contestan. “y eso que es”. La farmacia del lugar, si la hay, carecen de la mayoría de los medicamentos. Al preguntar al farmacéutico, si guardan algunos más en la rebotica, contestan que no, que todos están visibles. A veces he pedido el Vademécum, y carecen de él. Otras si la persona que dispensaba el medicamento era el farmacéutico, señala que no.

Son también frecuentes, otras enfermedades crónicas sin tratar o no tratadas adecuadamente, como diabetes, epilepsia, neurosis, e hipertensión arterial.

Formación, educación y ayuda

Cuando nos encontramos con grupos de pacientes en espera, aprovechamos para impartir charlas educativas y formativas, sobre todo de alimentación, acentuando el interés de ingerir ensaladas con fines de completar las necesidades en vitaminas y minerales, iones catalíticos de enzimas y metaloproteínas, que constituyen el 80% de todas ellas en el cuerpo humano. También hacemos hincapié en el andar, y en su defecto, el hacer movimientos de cuello y hombros, debido a que, en la práctica, la mayoría de los pacientes padecen dolores de cuello y músculos escapulares y esternocleidomastoideo.

Se suprime la habitual historia clínica completa o larga, por la necesidad de tener numerosos enfermos en cola, y para los cuales, tal vez sea su única visita médica. Las exploraciones son raras, solo las precisas focales para una exigencia concreta y determinada. Procuramos que el diagnóstico y el tratamiento sean lo más correctos posible. En determinadas ocasiones, se les pide el teléfono para

seguir la evolución del paciente y la fidelidad del éxito en el tratamiento, o el envío del medicamento.

Disponemos de todo tipo de material de curas y primeros auxilios, algunos productos químicos, material para determinaciones analíticas fundamentales, y microscopio para recuentos globulares y plaquetas, glucemia, constantes sanguíneas y urinarias. Todo ello justificado por mis estudios y títulos de Especialista en Bioquímica Clínica, en Análisis Clínicos y de Médico de Familia de la Unión Europea, y por otros dos compañeros mexicanos.

Medicamentos y donación de la medicación prescrita

La mayoría de los enfermos diagnosticados y otros, acuden para recibir los medicamentos para su enfermedad, ya que carecen habitualmente de ellos, y algunos necesitan medicarse durante un largo periodo de tratamiento, por padecimientos crónicos. Además de informarles sobre su enfermedad, trascendencia y mejora con el debido tratamiento, se les proporciona las cajas necesarias para llegar a término, o su largo tratamiento. En algunos casos, como el de padecimiento de hipertensión arterial crónica, se les medica para varios meses y se les aconseja el acudir al médico, aunque les represente un gran esfuerzo y el sacrificio de largas caminatas, para beneficio de su salud y otros para su longevidad, o que tengan el cuidado de sus hijos o nietos.

Diagnósticos y etiologías variadas

Los padecimientos típicos de la zona, y por los que la mayoría de los enfermos son atendidos corresponden a: dorso-lumbalgias, dolores escapulares, cervicales y del esternocleidomastoideo, principalmente las mujeres. Este tipo de dolencia está relacionada, con posturas inadecuadas y de quietud, al dormir en hamacas en corrientes de aire, y a veces entre dos árboles, muchas de ellas con viento y en posición de quietud. Asimismo, por las posturas en las actividades diarias domésticas, el cuidado de los hijos que cargan sobre sus espaldas. La humedad y cambios de temperatura bruscos ocasionan rinitis en muchos casos alérgicas, y catarros frecuentes que se infectan y agravan.

Las avitaminosis son frecuentes debido a la carencia de minerales, por hervir todas las legumbres y verduras cuyos líquidos con los iones minerales desechan. Asimismo, la falta de vitaminas causada por las carencias nutricionales, principalmente de frutas, verduras y su uniformidad proteica, por ingerir de forma cotidiana carne de pollo y cerdo.

La dieta, según versiones, suele ser muy homogénea en desayuno, comida y cena; y la escasa variedad dietética pudiera ser el origen de algunos trastornos e infecciones. Otras causas son las variaciones climáticas, el polen, la inhalación de la carbonilla de las hogueras diarias para cocinar los alimentos.

La piel se ve frecuentemente afectada, por la falta de higiene, oscuridad en las chozas, temperatura y humedad. Así como por picaduras ocasionales del *Phlebotomus* que ocasiona el botón de Oriente. Las carencias nutricionales en general, pueden dar paso a la frecuencia de infecciones, por deficiente activación de los mecanismos de defensa orgánica y de oxidoreducción.

Uno de los aspectos en que hacemos especial hincapié, es en el tratamiento que las mujeres con leucorrea deben seguir, puesto que ha de hacerlo la pareja y no es suficiente que uno de ellos lo lleve a cabo. Una ginecóloga mexicana que nos acompaña realiza también el Papanicolaou.

Además de los frecuentes casos de rinitis, de diversa etiología, nos encontramos con un elevado número de padecimientos de gastritis. Las cefaleas en hombres y mujeres son ocasionadas frecuentemente por beber poca agua; y primordialmente en mujeres por problemas de la familia, tales como trato con marido e hijos, pocos casos de alcoholismo, algunos casos de maltrato y frecuentes abusos, ya que, en ocasiones, conviven en la misma choza, de unos 10 a 15 m², la familia entera.

Otros diagnósticos frecuentes

Parasitismos en numerosas familias. En estas áreas del Centro y Sur de Yucatán hablar de parásitos está a la orden del día. Cuando muestran dolor en el área pancreática es signo de infestación parasitaria, pues los vermes se afincan en la grasa pancreática. Los mismos pacientes comentan el tiempo transcurrido desde que se desparasitaron la última vez y proponen una nueva desparasitación, proporcionándoles, según los casos, mebendazol o albendazol.

Diabetes. Algunos pacientes al medírseles la glucemia se sorprenden de padecer diabetes, cuyo nombre y enfermedad desconocen. Algunos pacientes acuden porque carecen de su medicación. Se les trata con Glibenclamida y Metformina, y proporcionan numerosas cajas para un largo tratamiento, pues, como ya mencionamos antes, no acuden a médico, pues tampoco les visita y carecen de farmacia; otras diabetes del tipo II, se tratan o precisan administración de insulina. Al comentar este particular con la Fundación de Laboratorios Lilly, nos ofrecieron proporcionar las insulinas necesarias para esos tratamientos; lo que agradecemos desde esta tribuna. Estos últimos pacientes, los menos frecuentes, acuden al Centro del Sanidad del Pueblo más cercano.

Dermatomicosis. Onicomicosis. Las onicomicosis son casos frecuentes, que desconocen por andar descalzos y considerar el estado normal de las uñas. Se les administra cremas, tabletas (Lamisil, Terbinafina) y tubos de vaselina, que aportamos en cantidad. Hemos recibido donaciones de Laboratorios Esteve y Beta-madrileño. En ocasiones les proporcionamos más de 20 tubos, tanto para el paciente como para el resto de familiares. Pues la mentalidad en esas áreas es de

una pertenencia común, y se sabe que cuando un miembro de una familia dispone de una crema la utilizan todos. Por esa razón, se les explica que el medicamento es personal y que para otros puede ser es un tóxico peligroso, que puede causarles daño corporal.

Epilepsia. Corea de Huntington. Párkinson. Algunos pacientes presentan trastornos neurológicos. Por ejemplo, una paciente sin tratar fue diagnosticada de Corea de Huntington, gracias a la información de sus padres al contarnos los típicos movimientos coreósicos.

Otro caso, fue el del Párkinson inopinado en un paciente, al verse temblando y cogerle las dos manos y sentir su temblor. Al decirle que padece Párkinson, responde: “¿y qué es esto?” Fuimos a la farmacia, y pedimos el Vademécum, para localizar un específico con levodopa, como Carbidopa, hallamos el “Cloisone” pero las pequeñas Farmacias que visitamos en los alrededores carecen del mismo, y de cualquier medicamento para el Párkinson. Se me indica que no lo va a tener tampoco en el futuro, que se tiene que adquirir en el pueblo y enviarlo por correo, porque en esta farmacia no se vende. Al llegar a Tulum lo compro en una farmacia y se lo envió en un sobre. Como carecen de dirección se le envía a la maestra del poblado para que se lo proporcione. Y posteriormente se lo envió desde Madrid. El primer año, pregunté en las Farmacias si en la rebotica disponen de más medicamentos, porque veía un máximo de unos 250 a 300 medicamentos en sus estanterías; y me comentaron que no tienen más que los visiblemente expuestos, porque no se venden. Disponen de los más usuales, todos ellos visibles en sus estanterías al entrar a la Farmacia.

Otras patologías

Se observan algunos casos de niños con problemas de crecimiento, debido a la malnutrición y carencia de vitaminas y minerales. Caídas de pelo por estas mismas causas. Porque el enviarles desde Madrid los medicamentos y aconsejarles tomar ensaladas siempre que pudieran en comida y cena, como beber agua para dolor de cabeza y jaquecas, comentaron en la siguiente visita el bien que se les hizo. Se les explica, que la necesidad de beber agua, consiste, en la evaporación del agua como sudor y pérdida de líquido cefalorraquídeo en ventrículos central y laterales de ambos encéfalos, y la necesidad de restablecer el equilibrio hidro-electrolítico en el cuerpo humano.

Algún caso grave y curioso, ocurre con frecuencia, p. ej. el de un paciente de 84 años, acompañado de su hijo de cincuenta, que me indica con fruición: “Doctor como no me dé usted algo, rápidamente, me voy a morir, porque sangro por la sonda del pene y por el ano”. Le contesto: “No se preocupe usted porque con mi móvil llamaremos al Hospital de Mérida con urgencia para que le envíen inmediatamente una ambulancia”. “Pero, doctor, si ya hemos llamado y nos han

dicho que hasta dentro de 23 días no me pueden recibir”. Me repetía varias veces que se iba a morir mientras consultaba mi Vademécum la dosis terapéutica. Le receté Nitrofurantoina 2 tabletas 4 veces al día los 4 primeros días y continuar con dos al día para su infección urinaria, tal vez de vejiga; y además Lidocaína crema, y crema con vitamina E alternativamente para el ano tres veces al día. Le manifesté que podría alcanzar más de los 20 días necesarios a la llegada de la Ambulancia.

Medicamentos

En estos casos, de visitar un lugar aislado y sin recursos, para tratar enfermos, y desconociendo lo que se va a encontrar, se trata de ir preparado con lo que uno pueda, aunque no se sepa a ciencia cierta que se vaya a aplicar, y otras administraciones de medicamentos de forma empírica. Desde esta tribuna debo agradecer a Laboratorios Esteve, Laboratorio Beta-Madrileño y a la fundación Lilly, por los medicamentos proporcionados, donados gratuitamente y ofrecidos respectivamente, que han curado casos muy especiales, como el de la Figura 5.



Figura 5.- Paciente con dermatomicosis de varias décadas de evolución (*Tinea*). Izquierda, antes del tratamiento; y derecha, después.

En la siguiente tabla, muestro una relación de medicamentos donados y a veces, por necesidad, adquiridos que dispensamos llevados al Yucatán:

1. Antibióticos	Amoxicilina, Amoxicilina + Clavulánico, Ampicilina, Ciprofloxacino, Cefotaxima, Cefalexina Cotrimoxazol, Cloranfenicol, Cloxacilina, Eritromicina, Cotrimoxazol, Doxiciclina
2. Antifúngicos	Clotrimazol, Ketoconazol, Miconazol, Nistatina
3. Antiparasitarios	Albendazol, Mebendazol, Metronidazol
4. Antifúngicos tópicos y antiparasitarios	Clotrimazol, Miconazol, Nistatina, Permetrina.
5. Antihipertensivos y Sist. cardiovascular	Captopril, Enalapril, Propanonol, Antiagregantes plaquetarios,
6. Sistema respiratorio	Ambroxol, Salbutamol, Codeina, Aminofilina
7. Analgésicos	Metamizol, Paracetamol, Ácido acetil-salicílico, Diclofenaco, Ibuprofeno.
8. Corticoides tópicos	Hidrocortisona, Betametazona.
9. Sistema digestivo	Omeprazol, Ranitidina, Cimetidina, Antiácidos (Hidróxido de aluminio).
10. Antidiarreicos	Loperamida. Suero-oral
11. Antieméticos	Metoclopramida.
12. Complementos vitamínicos	Hierro, Calcio, etc.
13. Diabetes	Glibenclamida, Metformina, Insulina.
14. Antiparkinsonianos	Levodopa-carbidopa, Akineton, , Cloisone.
15. Prednisona, Dexametasona.	
16. Pomadas antiinflamatorias, antisépticos, cicatrizantes.	
17. Preparados oftalmológicos y ópticos	Cloranfenicol, Gentamicina, colirio, pomada y gotas ópticas.

El porqué de las misiones médico-clínicas

La Misión Médico-Clínica iniciada en la periferia de Sao Paulo en 2005 y continuada en los pueblecitos y población difuminada en áreas el centro de la península del Yucatán, desatendido y pobre, proporciona la enseñanza de mejorar y formar a la población en sus costumbres y la de los jóvenes con largo futuro de existencia.

Los indígenas están desatendidos principalmente por la sociedad pues tienen cerca escuelas y algunas instituciones sanitarias, pero carecen de profesores, médicos, farmacéuticos, y otros sanitarios que podrían formarles. Estos permanecen en las ciudades, por elección, y otros emigran a otros países, olvidando a sus semejantes, de su propio país. Las mafias hacen que un país sea peligroso y las clases preparadas, ya sean intelectuales, universitarias y especializadas emigren a otros países, *it est*, los mexicanos a EE.UU y Europa. Conocemos estadísticas aterradoras que significan una verdadera sangría para México. Hecho que debe ocurrir en otros países y continentes.

Las áreas visitadas desde 2007 hasta hoy, son desatendidas principalmente, más bien por la sociedad de servicios, que por las estancias gubernamentales.

Organización desde México y Europa

La misión médica está organizada desde Europa, Alemania, por el padre de origen irlandés Bennet Tierney L.C., con médicos, enfermeras y estudiantes de finales de carrera alemanes, grupo, que como dije al inicio de este editorial, me incorporo cada año, y obedece a una llamada del Obispo de Cancún- Chetumal y de la Legión de Cristo. Otro grupo español de Salamanca es más antiguo y pionero en visitar las áreas del Sur de México, adonde acuden también anualmente, bajo la organización del sacerdote español Higinio Izquierdo, L.C. incardinado en aquella diócesis.

El porqué de realizarse en un área pobre y aislada, sorprende por la cercanía de la “Riviera Maya”, zona hotelera de importancia y prestigio mundial de todos conocido, frecuentada por ciudadanos del mundo, de alto y medio nivel de vida.

Normas para tener en cuenta

Como suele ser, España ha sido pionera con la vacunación contra la viruela, a escala mundial, en la América Española y Filipinas antes de su independencia, a principios de año 1800, en lo que posteriormente vendría a ocupar ese significado la Organización Mundial de la Salud. Dicha vacunación fue alabada en su día por Alexander von Humboldt. Salamanca inició con los Legionarios de Cristo, -que conocían bien la zona, y a través del Obispo mexicano de Cancún-Chetumal, Pedro Pablo Elizondo- esas misiones médicas

Pueden unirse a estas misiones tanto los profesionales de la sanidad, como cualquier otro voluntario dispuesto a ofrecer su tiempo y su trabajo a las personas necesitadas. Los voluntarios no profesionales de la sanidad podrán colaborar en los proyectos y actividades sociales que el misionero de la zona, párroco o persona de contacto local realice, destinados a la mejora de las condiciones socio-económico- sanitarias del lugar y a la promoción de la mujer indígena, mediante su formación en cuestiones tan importantes como la salud, alimentación y educación de sus hijos, para su futuro como buenos ciudadanos y profesionales.

Normas que se tienen en cuenta

Durante el periodo de visita a enfermos, se dan detalles de las actividades a realizar cada día. Se dispone de las cajas de medicamentos y material, reponiendo todo lo necesario. Es muy importante la puntualidad. Estar preparados para el “impacto” del contraste de culturas. Se debe ser flexible y adaptarse a las circunstancias. Beber solamente agua embotellada. Sonreír siempre, jugar con los niños y prestarles atención. Lavarse las manos a menudo, con un desinfectante limpiador sin agua, de secado rápido. No siempre se dispone de agua y jabón. Llevar zapatos cómodos. Es aconsejable calzar mocasines o botas de montaña cómodas e impermeables. Se practica el arte de la medicina de diferentes formas:

escuchando, tocando, hablando, respetando. Escuchar siempre con toda atención. Establecer buena relación con los sanitarios y trabajadores locales, alabando su trabajo, función y responsabilidad. Intercambiar conocimientos y experiencias. Se aprende mucho al atender a los locales. Se ejerce una gran influencia con lo que se tiene y hace. Se debe tener presente que no se pueden solucionar todos los problemas que se detectan. Intentar participar e intercambiar lo que se dispone en el equipo. Si se puede, se ayuda a otro. No hay tarea de poca importancia. Si se observa algo de interés, se comparte con el equipo. Conviene compartir y estar cerca los componentes del grupo. Y evitar acostarse tarde, pues se necesita descanso para la siguiente jornada.

Triage (selección y distribución de pacientes)

Éste es el primer paso de atención organizadora. Se mantiene siempre el orden y es el primero que cada día entra en acción. Si hay gente esperando todo el día sin comida o agua, debe atenderseles, especialmente a ancianos y niños. Los pacientes hacen cola ante las mesas de "triage" (registro, selección y distribución), pues no suele haber sillas suficientes, y ser distribuidos cuanto antes a los médicos que ya esperan. Un voluntario atiende la distribución de los pacientes. Habrá en el lugar donde pasemos consulta: una mesa y dos sillas para el médico y el paciente, generalmente acompañado o el traductor. Tener siempre bolígrafo y antiséptico para las manos. La experiencia nos dice que es mejor que la gente espere en cola, de uno en uno, fuera de la sala de triage. Se explica a los pacientes, el por qué se sacan fotos, para su estudio, discusión y sesión clínica. Siempre se pide permiso. Y finalmente un block para anotaciones precisas, necesarias para conocer la evolución del paciente.

Epílogo

Esperanza en el futuro

Existen muy diversas opiniones humanas, profesionales, sanitarias, sociales, docentes y políticas, sin embargo, "Manos Unidas" y otras ONGs católicas de desarrollo internacional firmaron el manifiesto "Las personas primero" en 2010, que decía: "Las medidas anticrisis han de recaer sobre todo en los causantes de la misma, y no sobre los mil veinte millones de personas, los más vulnerables del planeta, víctimas de un sistema internacional injusto, que ahora verán agravada su situación por los recortes".

Las administraciones, durante los recortes del Presidente de España, Rodríguez Zapatero, retiraron 1 millón de euros a "Manos Unidas" en 2010 y otro millón adicional en 2011, aunque los donativos privados crecieron, y casi lo compensaron.

A nivel europeo, las entidades pro-vida están recogiendo un millón de firmas en la "Campaña One of Us", para que no se gaste en abortos el dinero

europeo destinado a la "ayuda al desarrollo". A nivel internacional, la ONG católica "Matercare.org" está especializada en ayuda ginecológica, obstétrica y perinatal para madres y bebés de países pobres. Muy raramente recibe fondos públicos porque se niega a hacer abortos y anticoncepción. Pero hace campañas solicitando a los poderes públicos "financiar iniciativas positivas de ayuda maternal" y "luchar contra la pobreza", como en la campaña del "Día de la Madre" de tanto éxito y trascendencia en Canadá. Por todo ello, son muy reconfortantes las vivencias y experiencias humanitarias en el mundo de hoy, pues lo necesitan inexorablemente los más desamparados.

INFORMACIÓN ACADÉMICA



Bartolomé Ribas Ozonas

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

Durante el segundo trimestre del año 2013, han tenido lugar, un total de once sesiones científicas, de las cuales ocho fueron dedicadas a tomas de posesión de nuevos Académicos, uno de Número, seis Nacionales y uno Extranjero; dos mesas redondas y una conferencia.

El 13 de junio tuvo lugar la Solemne Sesión de toma de posesión de la plaza de Académico de Número Medalla nº 19, el Excmo. Sr. D. Francisco José Sánchez Muniz, Doctor en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid; Diplomado en Óptica Oftálmica y Acústica Audiométrica; Catedrático de Nutrición y Bromatología de la UCM y Medalla de Honor de la Facultad de Farmacia de la UCM.

Su discurso de Ingreso versó sobre: "Nutrición y Felicidad", en el que se detuvo señalando que la felicidad es una condición imaginaria, buscada de forma repetitiva para asegurar la supervivencia, que se complace en la posesión de un bien y que es índice de salud física y mental. La nutrición constituye una de las funciones básicas de todo ser vivo, que asegura la supervivencia, la permanencia de la especie, la pérdida de miedo y por tanto la autoconfianza y felicidad. No sólo comemos para cubrir nuestras necesidades, sino también por placer. Se crea un vínculo de unión entre el alimento y el individuo que se refuerza por parámetros sociales que transforman el alimento en símbolo. En su discurso se revisan aquellos aspectos de los alimentos que contribuyen a la felicidad, así como vías neuronales y del comportamiento con ellos relacionados. Se aporta evidencia científica de los mecanismos implicados en la búsqueda de recompensa a través de la alimentación, de la importancia nutricional y social de los alimentos funcionales que pueden tener implicación en el humor, y en retrasar o evitar la depresión y algunas enfermedades neurodegenerativas. Se concluye analizando los aspectos que hacen que un acto social, el comer, produzca felicidad, con especial mención de lo que implica la dieta y su composición en el Área Mediterránea.

Fue contestado por el Académico de Número, Excmo. Sr. D. Bernabé Sanz Pérez.

Las tomas de posesión de los Académicos Correspondientes nacionales tuvieron lugar el 4 de abril, D. José Manuel Arias de Saavedra y Alías; el 11 de abril,

D. Carlos Alonso Bedate; el 18 de abril, D. Jorge Gallardo; el 9 de mayo, D. Antonio Alcamí; el 23 de mayo, Dña. Mercedes Salaíces; y el 30 de mayo, Dña. Rosa M^a Ortega Anta.

El Ilmo. Sr. D. José Manuel Arias de Saavedra, es el Presidente del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Jaén. Su discurso de ingreso versó sobre "Alérgenos del polen de Olea europea y fenotipos clínicos de la enfermedad alérgica". Fue presentado por el Académico Bibliotecario de la RANF, Excmo. Sr. D. Francisco Javier Puerto Sarmiento.

El Ilmo. Sr. D. Carlos Alonso Bedate es profesor de Investigación Vinculado al CSIC-UAM y Profesor Honorario de la UAM. Su discurso de ingreso trató sobre: "La narrativa de unos hallazgos seguida de una reflexión". Le presentó el Académico de Número, Excmo. Sr. D. Federico Mayor Zaragoza.

El Ilmo. Sr. D. Jorge Gallardo es Doctor Ingeniero Industrial y Presidente del laboratorio farmacéutico Almirall. Su discurso de ingreso versó sobre: "Aclidinio, nueva molécula de investigación española con proyección internacional". Fue presentado por el Excmo. Sr. D. Juan Tamargo Menéndez, Académico de Número de la RANF.

El Ilmo. Sr. D. Antonio Alcamí es profesor de investigación del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa del CSIC, y tomó posesión con su discurso titulado: "Modulación de citoquinas por virus: una lección sobre estrategias terapéuticas anti-inflamatorias. Le presentó el Presidente de la corporación, Excmo. Sr. D. Mariano Esteban.

La Ilma. Sra. Dña. Mercedes Salaices es Catedrática en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UAM. Su discurso de ingreso versó sobre: "Estrés oxidativo, prostanoïdes y alteraciones vasculares en la hipertensión". Fue presentada por el Excmo. Sr. D. Ángel Villar del Fresno, Académico de Número de la RANF.

La Ilma. Sra. Dña. Rosa M. Ortega Anta es Catedrática en el Departamento de Nutrición de la Facultad de Farmacia (UCM). Pronunció el discurso de ingreso titulado: "Importancia de la Nutrición en aspectos funcionales, afectivos y cognitivos de los individuos". Fue presentada por el Académico de Número, Excmo. Sr. D. Antonio L. Doadrio Villarejo.

El 19 de junio, tomó posesión como Académico Correspondiente Extranjero el Prof. Dan Alain Lerner, Profesor Emérito en la ENSCM, Universidad de Montpellier, Francia, con su discurso de ingreso titulado: "El fundido encadenado entre química y biología para los marcadores fluorescentes". Le presentó el Académico Tesorero de la RANF, Excmo. Sr. D. Fidel Ortega Ortiz de Apodaca.

En cuanto a las dos Mesas Redondas, celebradas en colaboración con la Fundación José Casares Gil, el pasado 25 de abril tuvo lugar la de: "Simbiogénesis y Bacteriomas", organizada por la Sección Segunda de la RANF, cuyo coordinador fue el Excmo. Sr. D. Antonio R. Martínez Fernández, Vicepresidente de la RANF; quien también actuó como ponente junto con el Profesor Andrés Moya Simarro, Director del Grupo de Investigación sobre Genética Evolutiva de Valencia, y el Excmo. Sr. D. Rafael Sentandreu Ramón, Académico de Número electo de la RANF.

El Dr. Martínez trató el tema: "Simbiogénesis y simbiogenia en eucariotas unicelulares"; El Prof. Andrés Moya, sobre: "El papel de la simbiosis en la evolución de los artrópodos"; y el Prof. Sentandreu hablo sobre: "El Microbioma Humano".

El 16 de tuvo lugar la Mesa Redonda, sobre "Financiación de Medicamentos: aspectos jurídico, social y ético", organizada por la Sección Sexta de la RANF que fue presentada por la Excma. Sra. Dña. M^a del Carmen Francés, Académica de Número; y contó con la intervención de la Excma. Sra. Dña. Rosa Basante Pol, Académica de Número, en colaboración con el Dr. Carlos del Castillo, Profesor Ayudante Doctor en la Facultad de Farmacia UCM quienes abordaron el "Aspecto jurídico"; posteriormente el Ilmo. Sr. D. Antonio González Bueno, Académico Correspondiente de la RANF trató "La implantación de la prestación farmacéutica en el seguro obligatorio de enfermedad"; y por último el Ilmo. Sr. D. José López Guzmán, Académico Correspondiente de la RANF desgranó el "Aspecto ético".

El 6 de junio tuvo lugar la conferencia sobre "Riesgo potencial por nuevas variantes del virus de la gripe (y otros agentes biológicos) si se usaran con fines terroristas o bélicos", que fue impartida por el Excmo. Sr. D. José Antonio Cabezas Fernández del Campo, Académico de Número de la RANF.

En cuanto a los honores que han recibido nuestros Académicos durante este último trimestre, hay que destacar que la Excma. Sra. Dña. María Vallet Regí ha sido nombrada como una de las "IUPAC 2013 Distinguished Women in Chemistry or Chemical Engineering".

El premio se concede por la "International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)" entre las personas presentadas por una sociedad de química. En esta ocasión la Excma. Sra. Dña. María Vallet, Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, ha sido presentada por la Real Sociedad Española de Química.

El acto de entrega del premio tendrá lugar en una ceremonia especial durante el Congreso "IUPAC World Congress" que se celebrará en Estambul del 11 al 16 de agosto de 2013.

El Excmo. Sr. D. Javier Puerto Sarmiento ha sido recientemente nombrado Académico Correspondiente de la Academia Nacional de Ciencias Farmacéuticas de México.

La Excma. Sra. Dña. Rosa Basante Pol ha sido elegida Vicepresidenta del Instituto de Estudios Madrileños, adscrito al CSIC como miembro de la Confederación Española de Centros de Estudios Locales.

El Ilmo. Sr. D. Manel Esteller, Académico Correspondiente de la RANF y director del programa de Epigenética y Biología del Cáncer del IDIBELL, investigador ICREA, profesor de la Universidad de Barcelona, e investigador del programa de Ciencia de la Fundación Botín, ha sido galardonado con el premio Rey Jaime I de investigación básica en su 25ª edición. La Fundación Premios Rey Jaime I celebra su 25 aniversario con la participación de veinte Premios Nobel entre el jurado, formado por 90 personas



G-202: una granada de mano contra el cáncer

Ma del Carmen Avendaño López

Académica de número de la Real Academia Nacional de Farmacia.
Catedrática de Química Orgánica.
e-mail: avendano@ucm.es

Recibido el 22 de abril de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 194-199

“Engineering a Prostate-Specific Membrane Antigen–Activated Tumor Endothelial Cell Prodrug for Cancer Therapy”, Denmeade *et al.*, *Sci. Transl. Med.*, 4, 140ra86 (2012)

El 7 de septiembre de 2012 la revista Johns Hopkins Medicine comentaba que científicos del Johns Hopkins Kimmel Cancer Center estaban desarrollando, junto con investigadores daneses, el profármaco G-202, al que calificaban como una “granada de mano” contra el cáncer. El tratamiento con G-202 producía, tras 21 días, una reducción del tamaño de siete de los nueve tumores de próstata desarrollados en ratones superior al 50%. El 27 de junio de 2012, la revista Science Translational Medicine había publicado que G-202 es un profármaco que se activa en las células tumorales sin afectar a las sanas y produce como mínimo una regresión del 50% en modelos humanos de cáncer de mama, riñón y vejiga (1). Sobre esta base, varios hospitales norteamericanos se han implicado en un ensayo clínico de fase I para estudiar la seguridad de este compuesto, a la vez que se planifica un ensayo de fase II con pacientes de cáncer de próstata y de hígado.

Vamos a comentar aquí cuál es la base del diseño y el mecanismo de acción de esta “granada de mano” contra el cáncer comenzando por decir que, como otros muchos fármacos anticancerosos, está inspirada en un producto natural convenientemente modificado, y recordando que el lenguaje bélico se emplea con frecuencia en “la batalla” contra el cáncer. De hecho, la “declaración de guerra” al cáncer comenzó en 1971 con la firma por el Presidente Nixon de la Nacional Cancer Act.

El profármaco G-202 va dirigido contra la proteína denominada SERCA (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium adenosine triphosphatase), una ATPasa que se encuentra en el retículo sarcoplásmico de las células musculares y que durante la relajación muscular transporta Ca^{2+} desde el citosol al lumen de

dicho retículo a expensas de la hidrólisis de ATP. Esta función es imprescindible para la viabilidad de todos los tipos de células, debido a su papel crucial en la homeostasis del Ca^{2+} en el retículo endoplásmico. La tapsigargina es una toxina muy potente, aislada de la planta silvestre mediterránea *Thapsia garganica* (Figura 1), cuya toxicidad para los animales ya se conocía en la antigua Grecia. Las caravanas árabes la llamaban “zanahoria de la muerte”, porque mataba a los camellos que la ingerían. Hoy sabemos que esta toxina inhibe SERCA, pero al matar indiscriminadamente células cancerosas y normales es demasiado tóxica para su posible aplicación, por lo que se han sintetizado y estudiado distintos análogos, entre los que se encuentra 12-ADT (2).



Figura 1.- *Thapsia garganica*.

Modificando selectivamente las cadenas laterales de la tapsigargina (ver la Figura 2) se determinó que la cadena en C-8 podía ser modificada sin afectar mucho a su enlace con SERCA. El derivado 8-*O*-(12-aminododecanoil)-8-*O*-debutanoil-tapsigargina (12-ADT) mantenía la actividad citotóxica y un grupo amino fácilmente acoplable a un péptido (3). Este péptido podría ser reconocido por una proteína específica de los tumores que tuviera actividad hidrolítica para así liberar in situ la citotoxina.

La proteína específica elegida para este propósito fue PSMA (prostate-specific membrane antigen), ya que se encuentra sobreexpresada en la neovasculatura (células endoteliales) de la mayoría de los tumores sólidos, especialmente en el de las células de cáncer de próstata (4), pero no en las células endoteliales normales (5). El antígeno PSM es una glicoproteína de

transmembrana de clase II que posee actividad de carboxypeptidasa (6). El gen que lo codifica se clonó a fin de desarrollar anticuerpos monoclonales para su posible uso como reactivos de imagen en el cáncer de próstata metastático. El éxito obtenido con el anticuerpo PSMA J591, marcado con el radionúclido lutecio-177, sugirió que se podría utilizar la actividad proteolítica de este antígeno para activar un profármaco y lograr la muerte selectiva de las células cancerosas en los lugares en que se encuentran las metástasis (7).

Teniendo en cuenta la actividad de 12-ADT- β -Asp como una pteroil poly- γ -glutamil carboxipeptidasa (folato hidrolasa), se identificaron varios sustratos peptídicos específicos de PSMA y se enlazaron al análogo de tapsigargina 12-ADT para producir, entre otros muchos, el profármaco G-202, que se hidroliza *in situ* para dar el fármaco activo 12-ADT- β -aspártico (Figura 2). En estos estudios se demostró que los péptidos que contenían 5 aminoácidos ácidos podían ser hidrolizados por PSMA y los grupos carboxilo cargados negativamente impedían la penetración del profármaco antes de su hidrólisis en la membrana plasmática de las células normales. G-202 es completamente estable a la hidrólisis en el plasma, siendo ésta específica de PSMA.

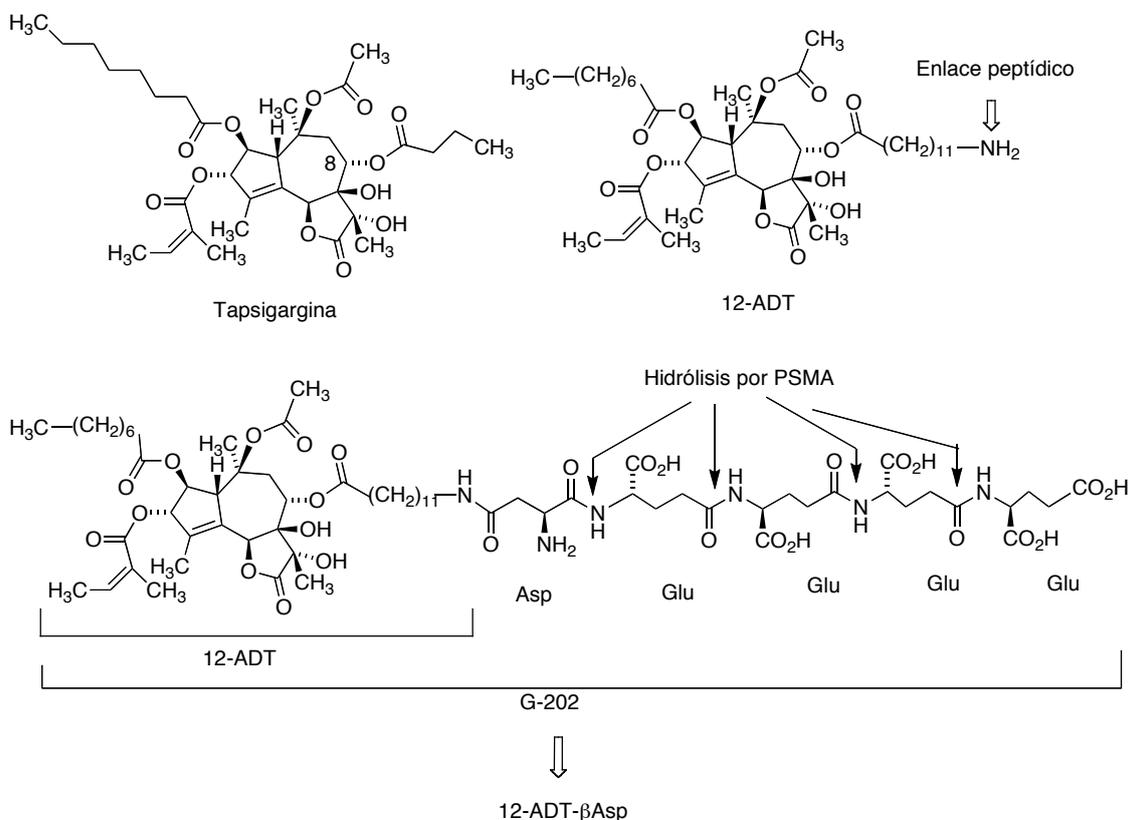


Figura 2.- Estructuras de tapsigargina, 12-ADT y G-202.

El análisis por difracción de rayos X de la estructura cristalina del complejo que forman SERCA (con 3 dominios citoplasmáticos y 10 hélices de

transmembrana) (8) y 12-ADT- β -Asp, demuestra que la cadena de 12 carbonos penetra en el dominio de transmembrana y sitúa el residuo de aspártico hacia el citoplasma, en un lugar de unión opuesto al que ocupa la taspigargina. El grupo α -amino de dicho residuo forma un enlace de hidrógeno con el residuo de glutamina Gln-250 de SERCA.

Por otra parte, los estudios estructurales del lugar catalítico de PSMA demostraron que éste posee un embudo profundo que va desde su superficie al sitio activo. La longitud de la cadena de 12 átomos de carbono de G-202 permite que la porción voluminosa correspondiente a taspigargina quede en el exterior y la cadena polipeptídica se sitúe en el centro activo, donde los residuos de glutamato se van hidrolizando secuencialmente, sin que los sustratos así originados se liberen del lugar catalítico (9).

El análisis histológico de los tumores realizado tras el tratamiento con G-202 en ratones xenotransplantados con cáncer de próstata humano reveló extensas áreas necróticas y extravasación de glóbulos rojos. Estudios previos demostraron además que 12-ADT- β -Asp produce una menor expresión del receptor androgénico en células de cáncer de próstata y la liberación del factor inductor de apoptosis (AIF) desde la mitocondria al núcleo, como parte del proceso que conduce a la muerte celular en dichas células (10). Como ya se ha comentado G-202 es igualmente activo en otros tumores sólidos, cuyas células endoteliales expresan PSMA.

Tras su administración intravenosa, G-202 puede viajar a través del torrente sanguíneo hasta que entra en contacto con PSMA, que se libera a los microentornos del cáncer de próstata y otros tumores sólidos, produciéndose entonces su activación (retirada del seguro de la *granada de mano*) y liberándose el compuesto tóxico 12-ADT- β -Asp. Éste se enlaza y bloquea el sistema de transporte SERCA, vaciando los almacenes de calcio en el retículo endoplásmico y produciendo la apertura de los canales de calcio en la membrana plasmática. La consiguiente elevación de los niveles de Ca^{2+} citosólico induce la apoptosis (11). Este proceso es independiente del ciclo celular, por lo que es altamente tóxico para todas las células, sea cual sea su estado de división. Tiene lugar a través de varios factores, entre los que se encuentran la activación de caspasas, la liberación de factores apoptóticos desde la mitocondria y la activación directa de endonucleasas dependientes de calcio que rompen el ADN (12).

En comparación con la taspigargina, que se distribuye en el organismo de forma indiscriminada, G-202 es capaz de liberar en el tumor altas concentraciones del tóxico 12-ADT- β -Asp, evitando la toxicidad sistémica. En los estudios toxicológicos realizados con animales se observó nefrotoxicidad debida probablemente a la expresión de PSMA en los túbulos proximales del riñón pero, afortunadamente, esta toxicidad revierte cuando cesa el tratamiento. Por otra

parte, aunque se observaron lesiones linfoides moderadas, no se produjeron lesiones cerebrales. Las dosis no tóxicas sirvieron para seleccionar en los ensayos clínicos de fase I ya iniciados, una dosis de 1,5 mg/m².

Conclusión

GenSpera, la empresa que desarrolla G-202, ha sido autorizada en EEUU y Gran Bretaña para la realización de un ensayo en fase II en pacientes con cáncer de próstata en los que ha fallado la terapia antiandrogénica o la quimioterapia. Los fármacos que se utilizan en estos tratamientos tienen mecanismos de acción diferentes a G-202, por lo que este compuesto representa una alternativa de gran interés para el cáncer de próstata metastático. Sin embargo, no hay nada peor que levantar falsas esperanzas en nuevos tratamientos contra el cáncer, ya que muchas de ellos han de abandonarse por motivos de seguridad y/o eficacia. No obstante, aunque conduzcan finalmente a un fracaso, la búsqueda de nuevas vías es el único camino para profundizar en el conocimiento de estas enfermedades.

Referencias

1. Denmeade, S. R.; Mhaka, A. M.; Rosen, D. M.; Brennen, W. N.; Dalrymple, S.; Dach, I.; Olesen, C.; Gurel, B.; DeMarzo, A. M.; Wilding, G.; Carducci, M. A.; Dionne, C. A.; Møller, J. V.; Nissen, P.; Christensen, S. B.; Isaacs, J. T.; (2012) "Engineering a Prostate-Specific Membrane Antigen-Activated Tumor Endothelial Cell Prodrug for Cancer Therapy", *Sci. Transl. Med.*, 4, 140ra86.
2. Sørhoel, H.; Jensen, A. M.; Møller, J. V.; Nissen, P.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; Olsen, C. E.; Christensen, S. B.; (2006) "Natural products as starting materials for development of second-generation SERCA inhibitors targeted towards prostate cancer cells", *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 2810-2815.
3. Singh, P.; Mhaka, A. M.; Christensen, S. B.; Gray, J. J.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; (2005) "Applying linear interaction energy method for rational design of noncompetitive allosteric inhibitors of the sarco- and endoplasmic reticulum calcium-ATPase", *J. Med. Chem.*, 48, 3005-3014.
4. Horoszewicz, J. S.; Kawinski, E. ; Murphy, G. P.; (1987) "Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients", *Anticancer Res.* 7, 927-935.
5. Samplaski, M. K.; Heston, W.; Elson, P.; Magi-Galluzzi, C.; Hansel, D. L.; (2011) "Folate hydrolase (prostate-specific antigen) 1 expression in bladder cancer subtypes and associated tumor neovasculature", *Mod. Pathol.*, 24, 1521-1529.
6. Pinto, J. T.; Suffoletto, B. P.; Berzin, T. M.; Qiao, C. H.; Lin, S.; Tong, W. P.; May, F.; Mukherjee, B.; Heston, W. D.; (1996) "Prostate-specific membrane antigen: a novel folate hydrolase in human prostatic carcinoma cells", *Clin. Cancer Res.*, 2, 1445-1451.
7. Milowsky, M. I.; Nanus, D. M.; Kostakoglu, L.; Sheehan, C. E.; Vallabhajosula, S.; Goldsmith, S. J.; Ross, J. S.; Bander, N. H.; (2007) "Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors", *J. Clin. Oncol.* 25, 540-547.
8. Davis, M. I.; Bennett, M. J.; Thomas, L. M.; Bjorkman, P. J.; (2005) "Crystal structure of prostate-specific membrane antigen, a tumor marker and peptidase", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 5981-5986.

9. Mesters, J. R.; Barinka, C.; Li, W.; Tsukamoto, T.; Majer, P.; Slusher, B. S.; Konvalinka, J.; Hilgenfeld, R.; (2006) "Structure of glutamate carboxypeptidase II, a drug target in neuronal damage and prostate cancer", *EMBO J.*, 25, 1375-1384.
10. Vander Griend, D. J.; Antony, L.; Dalrymple, S. L.; Xu, Y.; Christensen, S. B.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; (2009) "Amino acid containing thapsigargin analogues deplete androgen receptor protein via synthesis inhibition and induce the death of prostate cancer cells", *Mol. Cancer Ther.*, 8, 1340-1349.
11. Deniaud, A.; Sharaf el dein, O.; Malillier, E.; Poncet, D.; Kroemer, G.; Lemaire, C.; Brenner, C.; (2008) "Endoplasmic reticulum stress induces calcium-dependent permeability transition, mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis", *Oncogene*, 27, 285-299.
12. Tabas, I.; Ron, D.; (2011) "Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress", *Nat. Cell Biol.*, 13, 184-190.



AS101, un interesante fármaco multipotente

M^a del Carmen Avendaño López

Académica de número de la Real Academia Nacional de Farmacia.
Catedrática de Química Orgánica.
e-mail: avendano@ucm.es

Recibido el 11 de junio de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 200-206

“Cyclophosphamide Triggers Follicle Activation and “Burnout”; AS101 Prevents Follicle Loss and Preserves Fertility”, Kalich-Philosoph et al., Sci. Transl. Med., 5, 185ra62 (2013)

En la génesis y mantenimiento de muchas enfermedades complejas intervienen sinérgicamente diversas proteínas o productos derivados de distintos genes. En estos casos adquieren importancia los fármacos multipotentes o multifuncionales, que son aquellos capaces de producir varios efectos farmacológicos. Su hallazgo puede ser fortuito, por cribado al azar de compuestos naturales o de síntesis, o ser consecuencia de la unión en una sola molécula de distintos grupos farmacóforos que actúan simultáneamente sobre diversas dianas. Esta técnica se explota por ejemplo en la compañía farmacéutica Catabasis, situada en Cambridge (Massachussets), para producir fármacos que actúen sinérgicamente sobre las distintas dianas implicadas en una enfermedad. Así, la unión de un agente que suprime la respuesta pro-inflamatoria con otro que activa la respuesta anti-inflamatoria a través de un enlace químico diseñado para que se rompa por la catálisis de determinadas enzimas naturales, es más eficaz que si ambos compuestos se administran por separado, quizás porque el enlace que los une los mantiene inactivos hasta que llegan al tejido correcto.

El hallazgo de un fármaco sencillo que sea multipotente o multifuncional es poco frecuente. Uno de estos fármacos es el derivado de Te(IV) AS101 que tiene una larga y productiva historia y para el que se ha descrito en una publicación reciente de Science Translational Medicine (1), subsidiaria de la revista Science que recoge las investigaciones que aspiran a una aplicación clínica directa, su posible uso como coadyuvante para mantener la fertilidad de mujeres jóvenes que requieran ser tratadas con ciclofosfamida. Los tratamientos anti-cáncer con agentes alquilantes, y en particular con ciclofosfamida, tienen a veces efectos

secundarios irreversibles, siendo una de las consecuencias más traumáticas en mujeres jóvenes la destrucción de la reserva de ovocitos. Hasta ahora se creía que la quimioterapia mataba los folículos ováricos quiescentes, que son la reserva de los ovocitos, y para evitar la pérdida de la capacidad reproductora de las pacientes que van a ser tratadas se congelan los ovocitos y embriones, o una parte del tejido ovárico, y se trasplantan tras la recuperación (2). Sin embargo, científicos del Centro Médico Sheba (Israel) han estudiado los mecanismos por los que se producen el fallo ovárico prematuro y la infertilidad en ratones hembra, cuyos ovarios son muy similares a los de las mujeres, comprobándose que tras la administración del agente alquilante ciclofosfamida a través de la activación de la vía de señalización PI3K/Akt se induce el crecimiento de los folículos ováricos y esto es lo que origina la pérdida de la reserva de ovocitos. La coadministración de ciclofosfamida y el fármaco AS101 [tricloro(dioxi-etileno-*O,O'*)telurato amónico], también conocido como IVX-Q-101, WAX-120337, u Ossirene, evita la activación de los folículos y los protege de una maduración temprana, evitando la pérdida de fertilidad. Así pues, AS101 podría llegar a utilizarse en humanos si se superan todos los estudios requeridos, evitando así las costosas y traumáticas intervenciones anteriormente citadas.

Esta noticia ha despertado el interés por los compuestos órganoteluro-IV, que en los últimos años han mostrado diversas actividades, excitantes pero muy complejas, en las células malignas y en las sanas. Empecemos por decir que, aunque el telurio es el cuarto oligoelemento más abundante en el cuerpo humano, la actividad terapéutica de los compuestos que lo contienen se ha analizado poco (3). El compuesto AS101 es el único que ha sido muy estudiado preclínica- y clínicamente, fundamentalmente por el Dr. Benjamín Sredni, uno de los autores de este trabajo. Se trata de un fármaco multipotente poco tóxico y de fácil acceso, que se asemeja estructuralmente al cis-platino. Al igual que otros compuestos órganoteluro-IV, su actividad está directamente relacionada con la capacidad del Te para interaccionar con grupos tiol (SH) de distintas macromoléculas endógenas (Figura 1).

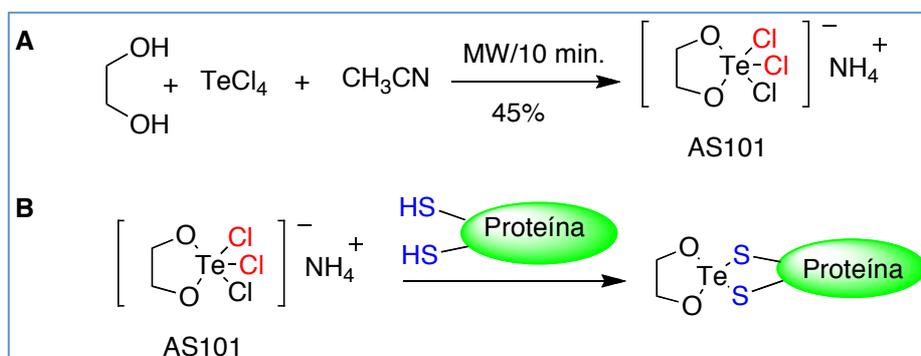


Figura 1.- A: Una síntesis de AS101. **B:** Mecanismo de acción.

Entre otros compuestos órganoteluro-IV bioactivos se encuentran el octa-*O*-bis-(*R,R*)-tartrato de teluro (SAS) (4), que interacciona con grupos tiol formando productos inestables $\text{Te}(\text{SR})(4)$, y el benciltrietilamonio 2,2,2,4-tetracloro-2,5-dihidro-1,2λ5-oxateluro (RT-01) (5) (Figura 2). Ambos han mostrado selectividad para enlazarse a grupos SH de residuos de cisteína de la proteasa catepsina B, que está implicada en la invasión tumoral. RT-01 es además eficaz frente a *Leishmania amazonensis* (6).

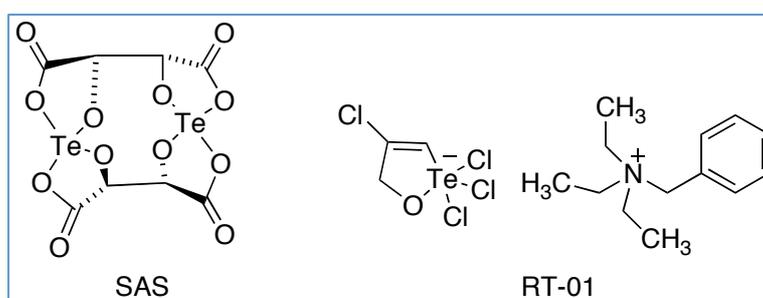


Figura 2.- Otros derivados de Te(IV) biológicamente activos.

AS101 ha mostrado un gran potencial terapéutico en diversas patologías que implican la inmunosupresión a través de su capacidad para modular factores de transcripción celular (Creb) que inhiben la síntesis de IL-10 (7) (ver la Figura 3), y potenciar la liberación de IL-1 α , IL-2 y TNF- α . Sus efectos antiinflamatorios se han asociado con la regulación de la señalización NF κ B, que controla cientos de genes y puede activarse en el estrés que se produce en las células cancerosas debido a los niveles altos de especies reactivas de oxígeno (ROS) (8). Dado que la activación de NF κ B requiere a su vez que citoquinas, como TNF- α y (IL)-1 β , activen el complejo de proteínas IKK (I κ B cinasas) y que tanto IKK como NF κ B pueden regularse por modificaciones de sus grupos SH, puede entenderse la actividad antiinflamatoria de compuestos como AS101 y SAS y su interés como posibles fármacos anti-cáncer (9), aunque AS101 es el único que ha entrado en ensayos clínicos. Entre los efectos que influyen de forma importante en su actividad antitumoral y en su capacidad para restaurar la sensibilización de los tumores a la quimioterapia (10), podemos mencionar la inactivación de proteínas inflamatorias y apoptóticas como las caspasas (que contienen un residuo cisteína clave en el sitio catalítico), de proteasas como la catepsina B (ya mencionada), y de proteínas implicadas en la supervivencia tumoral como la survivina o las integrinas.

Las integrinas modulan la señalización y la adhesión entre las células y entre éstas y la matriz extracelular a través de la interacción con sus ligandos endógenos. La integrina α v β 3 tiene un papel importante en la angiogénesis y en la emigración de las células endoteliales, y la integrina VLA-4 (también llamada α 4 β 1) es un receptor que se expresa en la mayor parte de los leucocitos, siendo

importante en la adhesión, migración, y activación de éstos que se produce en los procesos inflamatorios (Figura 3). Esto puede explicar que AS101 posea actividad antimicrobiana (11) y se haya propuesto como un potencial antiviral (12). En modelos de enfermedades inflamatorias, como el asma, la artritis reumatoide o la esclerosis múltiple, se ha demostrado que los antagonistas del receptor VLA-4, o los anticuerpos monoclonales específicos, impiden la infiltración de linfocitos en el tejido extravascular, evitando el daño tisular. También se sabe que la integrina VLA-4 tiene un importante papel en la resistencia a la quimioterapia que se produce en el tratamiento de ciertas leucemias, como la leucemia mieloide aguda (AML) producida por fallos en la diferenciación de los mieloblastos y su proliferación. En la mayor parte de los pacientes con AML, las células del estroma de la médula ósea VLA-4 positivas se hacen resistentes a la apoptosis inducida por la quimioterapia a través de la activación de la vía de señalización (PI-3K)/Akt/Bcl-2 que provoca la interacción entre VLA-4 y la fibronectina. Recientemente se ha descubierto que ciertos residuos de cisteína clave para la acción de las integrinas poseen grupos SH con el potencial redox óptimo formar complejos de Te, lo que conduce a su inactivación al impedir la unión a sus ligandos. De esta forma, el fármaco AS101 es capaz de revertir la mencionada resistencia a la quimioterapia y sensibilizar a las células AML, por lo que este fármaco también podría utilizarse en terapias de combinación con fármacos citotóxicos convencionales.

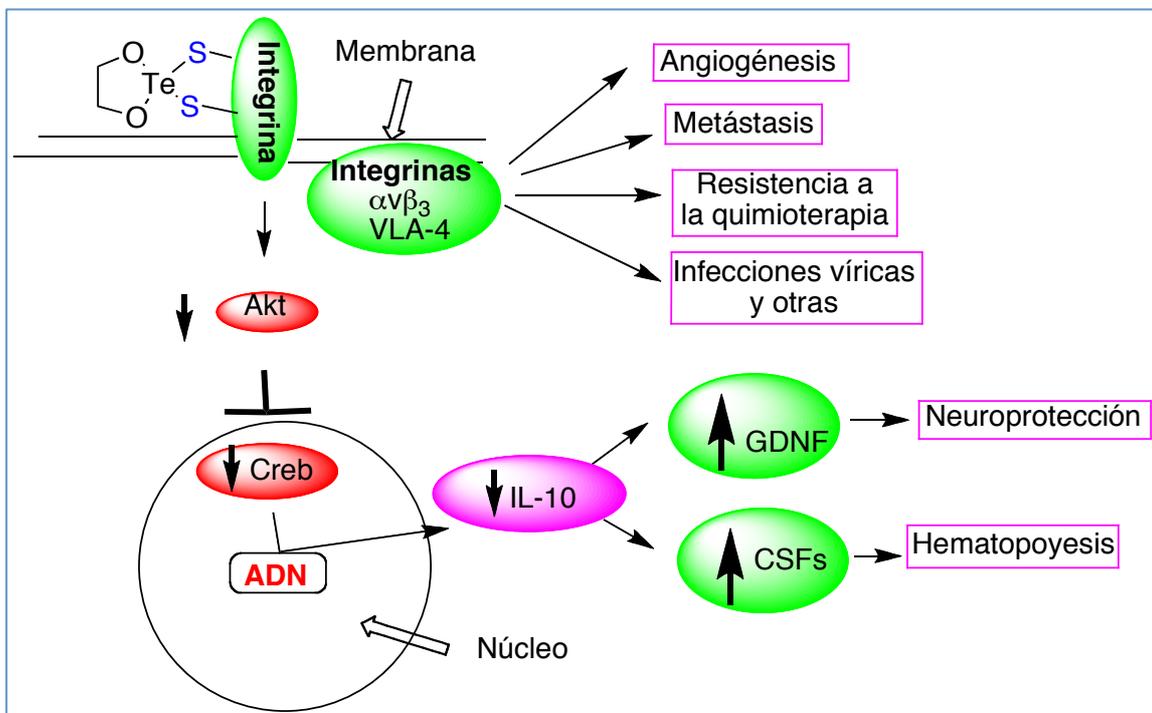


Figura 3.- Papel de las integrinas. Algunos efectos de su interacción con AS101.

AS101 puede ser efectivo igualmente en el tratamiento de la dermatitis atópica (13) y ciertos tipos de alopecia (14) (como la alopecia inducida por la quimioterapia) (15), en enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson (posiblemente por incrementar la expresión de factores neurotróficos como GDNF) (16), en el tratamiento de la diabetes tipo 2 (17), como protector de la médula ósea de los efectos tóxicos de la quimioterapia (posiblemente a través de la expresión de factores CSF) (18), y un amplio etcétera al que acaba de incorporarse su posible aplicación para prevenir la infertilidad en mujeres tratadas con quimioterápicos (Figura 4).

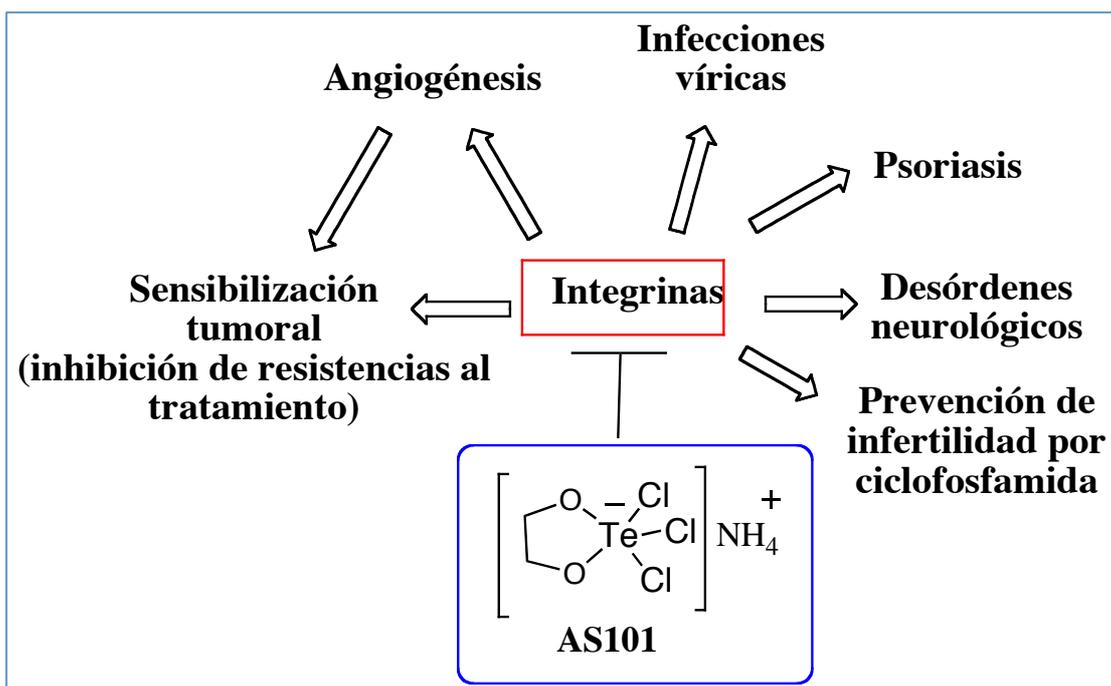


Figura 4.- Aplicaciones terapéuticas propuestas para el fármaco AS101.

Naturalmente, un fármaco capaz de producir tantos efectos puede tener problemas. Pensemos por ejemplo que la survivina, un inhibidor de las proteínas apoptóticas que está sobreexpresado en muchos tipos de cáncer (19) y se asocia a la resistencia a la quimioterapia, también se expresa en células adultas normales, fundamentalmente en las células hematopoyéticas, linfocitos T, neutrófilos polimorfonucleares y células del endotelio vascular. Por ello, su inactivación podría afectar a las funciones celulares normales y, en particular, al sistema hematopoyético e inmune y, aunque las terapias antisurvivina desarrolladas hasta el momento no han mostrado una gran toxicidad sistémica, sería necesario un mayor conocimiento de los mecanismos de regulación de esta proteína para así lograr antagonizarla selectivamente.

Sería deseable que el fármaco AS101, además de ser un incuestionable protagonista de las investigaciones del Dr. Benjamín Sredni, pudiera incorporarse

al tratamiento de alguno de los problemas terapéuticos en los que ha demostrado su posible aplicación.

Referencias

1. Kalich-Philosoph, L.; Roness, H.; Carmely, A.; Fishel-Bartal, M.; Ligumsky, H.; Paglin, S.; Wolf, I.; Kanety, H.; Sredni, B.; Meirou, D.; (2013) "Cyclophosphamide Triggers Follicle Activation and "Burnout"; AS101 Prevents Follicle Loss and Preserves Fertility", *Sci. Transl. Med.* 5, 185ra62.
2. Brydoy, M.; Fossa, S. D.; Dahl, O.; Bjørø T.; (2007) "Gonadal dysfunction and fertility problems in cancer survivors"; *Acta Oncol.* 46, 480-9.
3. Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J. B.T.; (2004) "Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology", *Chem. Rev.*, 104, 6255-6285.
4. Yosef, S.; Brodsky, M.; Sredni, B.; Albeck, A.; Albeck M.; (2007) "Octa-O-bis-(R,R)-Tartarate Ditellurane (SAS) - a novel bioactive organotellurium(IV) compound: synthesis, characterization, and protease inhibitory activity"; *ChemMedChem.*, 2, 1601-1606.
5. Cunha, R. L.; Urano, M. E.; Chagas, J. R.; Almeida, P. C.; Bincoletto, C.; Tersariol, I. L.; Comasseto, J. V.; (2005) "Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium (IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B"; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15, 755-760.
6. Lima, C. B.; Arrais-Silva, W. W.; Cunha, R. L., Giorgio, S.; (2009) "A novel organotellurium compound (RT-01) as a new antileishmanial agent", *Korean J. Parasitol.*, 47, 213-218.
7. (a) Kalechman, Y.; Sredni, B.; (1996) "Differential effect of the immunomodulator AS101 on B7-1 and B7-2 costimulatory molecules: role in the antitumoral effects of AS101"; *J. Immunol.*, 157, 589-597. (b) Sredni, B., Tichler, T.; Shani, A.; Catane, R.; Kaufman, B. ; Strassmann, G.; Albeck, M.; Kalechman, Y.; (1996) "Predominance of TH1 response in tumor-bearing mice and cancer patients treated with AS101"; *J. Natl. Cancer Inst.* 88, 1276-1284. (c) Kalechman, Y., Strassmann, G.; Albeck, M.; Sredni, B.; (1998) "Upregulation by ammonium trichloro(dioxoethylene-O,O')tellurate (AS101) of Fas/Apo-1 expression on B16 melanoma cells: implications for the antitumor effects of AS101"; *J. Immunol.*, 161, 3536-3542. (d) Kalechman, Y.; Gafter, U.; Gal, R.; Rushkin, G.; Yan, D.; Albeck, M.; Sredni, B.; (2002) "Anti-IL-10 Therapeutic Strategy Using the Immunomodulator AS101 in Protecting Mice from Sepsis-Induced Death: Dependence on Timing of Immunomodulating Intervention", *J. Immunol.*, 169, 384-392.
8. (a) Sredni, B.; Caspi, R. R.; Klein, A.; Kalechman, Y.; Danziger, Y.; Benya'akov, M.; Tamari, T.; Shalit, F.; Albeck, M.; (1987) "A new immunomodulating compound (AS-101) with potential therapeutic application"; *Nature*, 330, 173-176. (b) Brodsky, M.; Halpert, G.; Albeck, M.; Sredni, B.; (2010) "The anti-inflammatory effects of the tellurium redox modulating compound, AS101, are associated with regulation of NFkappaB signaling pathway and nitric oxide induction in macrophages"; *J. Inflamm. (Lond)*, 7, 3.
9. Sredni, B.; (2012) "Immunomodulating tellurium compounds as anti-cancer agents"; *Semin. Cancer Biol.*, 22, 60-69.
10. (a) Sredni, B.; Weil, M.; Khomenok, G.; Lebenthal, I.; Teitz, S.; Mardor, Y.; Ram, Z.; Orenstein, A.; Kershenovich, A.; Michowiz, S.; Cohen, Y. I.; Rappaport, Z. H.; Freidkin, I.; Albeck, M.; Longo, D. L.; Kalechman, Y.; (2004) "Ammonium trichloro(dioxoethylene-O,O')tellurate (AS101) sensitizes tumors to chemotherapy by inhibiting the tumor interleukin 10 autocrine loop"; *Cancer Res.*, 64, 1843-1852. (b) Hagan, R.; Shpungin, S.; Malovani, H.; Albeck, M.; Okun, E.; Nir, U.; Sredni, B.; (2007) "Novel involvement of the immunomodulator AS101 in IL-10 signaling, via the tyrosine kinase Fer", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1095, 240-250.
11. (a) Daniel-Hoffmann, M.; Albeck, M.; Sredni, B.; Nitzan, Y.; (2009) *Arch. Microb.*, 191, 631-638. (b) Daniel-Hoffmann, M.; Sredni, B.; Nitzan, Y.; (2012) "Bactericidal activity of the

- organo-tellurium compound AS101 against *Enterobacter cloacae*"; *J. Antimicrob. Chemother.*, 67, 2165-2172.
12. Indenbaum, V.; Bin, H.; Makarovsky, D.; Weil, M.; Shulman, L. M.; Albeck, M.; Sredni, B.; Mendelson, E.; (2012) "In vitro and in vivo activity of AS101 against West Nile virus (WNV)"; *Virus Res.*, 166, 68-76.
 13. Sredni-Kenigsbuch, D.; Sota, M.; Shohat, B.; Ben-Amitai, D.; Chan, C. C.; David, M.; (2008) "The novel tellurium immunomodulator AS101 inhibits interleukin-10 production and p38 MAPK expression in atopic dermatitis"; *J. Dermatol. Sci.*; 50, 232-235.
 14. Sredni, B.; Gal, R.; Cohen, I. J.; Dazard, J. E.; Givol, D.; Gafter, U.; Motro, B.; Eliyahu, S.; Albeck, M.; Lander, H. M.; Kalechman, Y.; (2004) "Hair growth induction by the Tellurium immunomodulator AS101: association with delayed terminal differentiation of follicular keratinocytes and ras-dependen up-regulation of KGF expression"; *FASEB J.*, 18, 400-402.
 15. (a) Sredni, B.; Albeck, M.; Tichler, T.; Shani, A.; Shapira, J.; Bruderman, I.; Catane, R.; Kaufman, B.; Kalechman, Y.; (1995) "Bone marrow-sparing and prevention of alopecia by AS101 in non-small-cell lung cancer patients treated with carboplatin and etoposide", *J. Clin. Oncol.*, 13, 2342-2353. (b) Sredni, B.; Xu, R. H.; Albeck, M.; Gafter, U.; Gal, R.; Shani, A.; Tichler, T.; Shapira, J.; Bruderman, I.; Catane, R.; Kaufman, B.; Whisnant, J. K.; Mettinger, K. L.; Kalechman, Y.; (1996) "The protective role of the immunomodulator AS101 against chemotherapy-induced alopecia: studies on human and animal models", *Int. J. Cancer.* 65, 97-103.
 16. (a) Makarovsky, D.; Kalechman, Y.; Sonino, T.; Freidkin, I.; Teitz, S.; Albeck, M.; Weil, M.; Geffen-Aricha, R.; Yadid, G.; Sredni, B.; (2003) "Tellurium compound AS101 induces PC12 differentiation and rescues the neurons from apoptotic death", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1010, 659-666. (b) Sredni, B.; Geffen-Aricha, R.; Duan, W. Z.; Albeck, M.; Shalit, F.; Lander, H. M.; Kinor, N.; Sagi, O.; Albeck, A.; Yosef, S.; Brodsky, M.; Sredni-Kenigsbuch, D.; Sonino, T.; Longo, D. L.; Mattson, M. P.; Yadid, G.; (2007) "Multifunctional tellurium molecule protects and restores dopaminergic neurons in Parkinson's disease models"; *FASEB J.*, 21, 1870-1883.
 17. Halperin-Sheinfeld, M., Gertler, A.; Okun, E.; Sredni, B.; Cohen, H. Y.; (2012) "The Tellurium compound, AS101, increases SIRT1 level and activity and prevents type 2 diabetes"; *Aging*, 4, 436-447.
 18. Kalechman, Y.; Shani, A.; Sotnik-Barkai, I.; Albeck, M.; Sredni, B.; (1993) "The protective role of ammonium trichloro(dioxoethylene-*O,O'*)tellurate in combination with several cytotoxic drugs acting by different mechanisms of action", *Cancer Res.*, 53, 5962-5969.
 19. Hayun, M.; Naor, Y.; Weil, M.; Albeck, M.; Peled, A.; Don, J.; Haran-Ghera, N.; Sredni, B.; (2006) "The immunomodulator AS101 induces growth arrest and apoptosis in multiple myeloma: association with the Akt/survivin pathway"; *Biochem. Pharmacol.*, 72, 1423-1431.



Ciencia y simbiosis: retos y logros

Andrés Moya

Catedrático de Genética de la Univesitat de València. Unidad Mixta de Investigación en Genómica y Salud de la Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO-Salud Pública) y el Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva de la Universitat de València.

email: andres.moya@uv.es

Recibido el 9 de junio de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 207-212

SOBRE LA CIENCIA

Como sostiene Ortega y Gasset (1) en su meditación sobre la técnica, el hombre es en tanto que ser técnico. La técnica lo cualifica con respecto a otros entes vivos. Y en la medida en que la técnica se racionaliza, es decir, se dota de ciencia, podemos afirmar que nuestra capacidad de intervención sobre la naturaleza se hace progresivamente más inteligente. Por lo tanto, no es pertinente en modo alguno estigmatizar a la técnica o la ciencia y obviar su radical presencia en la historia de nuestra especie, el hecho de que forman parte de nuestra esencia, como sostiene Heidegger (2), para reclamar un trasnochado humanismo donde ellas estuvieran ausentes.

Para Ortega y Gasset la técnica suministra bienestar al ser humano, no es algo prescindible bajo ningún concepto de humanismo. La historia de nuestra especie bien puede interpretarse a la luz de esta acción salvífica de la técnica y, por qué no, el considerar como esencialmente nuestro lo de ser entes dotados para la técnica y, por ello, poder beneficiarnos de sus efectos. Pero cuando la técnica se hace científica, es decir, cuando el instrumento o el medio sujetos a intervención se hace inteligible o explicable gracias a la ciencia, tanto el ente material que proporciona el bienestar al ser humano como él mismo entran en una nueva relación. Y más aún si ambos coinciden porque, en efecto, el ser humano se puede proporcionar bienestar a sí mismo a través de la autointervención (3). De eso trata la medicina, la *“Ars medica”* de siempre y la medicina científica de nuestro tiempo: de la autointervención que proporciona bienestar.

Si el planeta, tal y como lo conocemos, quedó transformado por la vida que en él evolucionó, también es cierto que la acción antrópica ha procedido a transformarlo desde el momento en que nuestra especie desplegó sus habilidades

intelectivas, lo que tampoco quiere decir que tal despliegue haya sido siempre inteligente a tenor de algunos de los efectos negativos provocados. Son paradojas, diría que inevitables, del progreso, pero en modo alguno hay que tomarlos como el criterio para renegar de la tecnociencia. No existe una Arcadia feliz adonde regresar, porque si lo hiciéramos sería con nuestra natural tendencia a intervenirla. Sólo normas de orden superior, que prohibieran el quehacer tecnocientífico en base a su supuesta negatividad, podrían impedir tal tendencia. De una manera u otra se precipita la necesidad de establecer un mayor control inteligente del planeta, y lo que ello comporta en todos los planos, desde la ciencia estrictamente, hasta la organización de la sociedad y la acción política.

Desde la óptica de la ciencia, la mejor tesis para obviar los efectos negativos de intervencionismos defectuosos, por falta de racionalidad y con unas bases éticas más que dudosas, es continuar en la dinámica de una ciencia prometeica, una ciencia creativa, de fundamentos, que haga caso omiso a las demandas de la ciencia fáustica de las aplicaciones inmediatas, una ciencia que siga su actividad académica e institucional, nutriéndose con los recursos otorgados por los poderes públicos.

Al decir de algunos, los avances de la ciencia son tales que ya conocemos suficientes leyes fundamentales de la naturaleza como para iniciar la oleada de intervenciones fáusticas. Pero hay que tener precaución frente a tales declaraciones que pueden obedecer, también, a intereses de corporaciones, públicas y privadas, que intentan poner en marcha determinados programas intervencionistas sobre bases dudosamente prometeicas y bajo un insuficiente estado del conocimiento científico correspondiente.

Seguimos necesitando ciencia creativa, fundacional, no porque ésta sea una aspiración nostálgica de la ciencia de los tiempos de Galileo y Bacon, sino simplemente porque nuestro conocimiento de las leyes de la naturaleza sigue siendo insuficiente (4).

La ciencia moderna tiene más de trescientos años. Pero su desarrollo ha sido muy desigual. Examinemos el ejemplo de Europa. Solo tenemos que visitar la Royal Society del Reino Unido o algunas ciudades universitarias en ese país o Alemania para apreciar rápidamente la diferente percepción que sobre la ciencia se tiene en países de nuestro entorno con respecto al nuestro. La política científica en España ha dado pasos importantes en poco más de treinta años. Tal que si habláramos del vino madurado en bodega, donde no es lo mismo un año que diez, tampoco lo son treinta que trescientos de quehacer científicos. Todavía nos resta un camino importante por recorrer, aunque tengamos que imprimir aceleración para no perder el tren del crecimiento económico basado en el conocimiento. Un camino que es necesario andar para que la sociedad y, por tanto, la clase política que de ella emana, perciba que cuando se está en crisis económica, probablemente

sea mejor opción para el futuro social y económico del país el invertir en conocimiento que recortar el presupuesto en ciencia. Alemania optó por ese incremento hace unos años, en plena crisis tras la desaparición del telón de acero, y de sobra es conocido que el éxito de la economía de los EEUU tras la segunda guerra mundial se correlaciona muy bien con la inversión creciente en ciencia en sus grandes centros universitarios e institutos nacionales de investigación.

SOBRE LA SIMBIOSIS

Darwin se hubiera quedado atónito si le hubieran mostrado que aproximadamente dos kilos de la masa corporal de un adulto humano es microbiana. Y me atrevo a sugerir que hubiera reconsiderado hasta cierto punto la importancia que la simbiosis -la vida íntima entre dos o más especies- y, particularmente, las simbiosis cooperativas -aquellas que benefician a todos los actores implicados-, tiene para la biología y la evolución. Pero la ciencia de su tiempo no estaba en condiciones de poder determinar hasta qué punto este asociacionismo permea y es particularmente importante para entender el mundo viviente. Hemos tenido que esperar al advenimiento de la genómica y el acceso al mundo microbiano no cultivable para darnos cuenta del importante papel que ese mundo juega, por ejemplo, en la salud humana (5,6).

Pero déjenme que les relate sucintamente lo que considero la apasionante historia que me ha llevado a estudiar las simbiosis microbianas. Y empiezo con la propuesta para secuenciar el genoma de una bacteria. Nos situamos en la década de los noventa del siglo pasado y el proyecto comportaba un reto científico y tecnológico sin precedentes, o al menos así era como yo lo percibía: sería el primer genoma secuenciado íntegramente en España. Pero: ¿qué organismo? La decisión al respecto no era nada trivial. Y como tantas veces ocurre en ciencia creo que la oportunidad está para quien la busca. Hacía tiempo que en nuestro laboratorio trabajábamos con bacterias que viven en simbiosis en insectos, concretamente pulgones, y por datos propios y de otros teníamos fundadas sospechas de que sus genomas serían realmente pequeños.

Claro, si las bacterias vivían confortablemente en el interior de células especializadas del insecto, lo normal sería que prescindiera de muchos de los genes cuya expresión sería necesaria en circunstancias ambientales imprevisibles. Por lo tanto, la bacteria recibía nutrientes esenciales por parte de su hospedador. Pero: ¿qué le suministraba la bacteria? Pues precisamente una serie de aminoácidos, esenciales también, que aquel no podía obtener de su dieta habitual. Un caso de simbiosis mutualista, tanto, que uno ya no puede vivir sin el otro. Por lo tanto: ¿qué mejor que buscar recursos para secuenciar, al menos, ese

microorganismo. Si ya de por sí los microorganismos son portadores de genomas pequeños, todavía más lo sería el de esa bacteria simbiote (7).

Este proyecto tuvo dos fases bien distintas. La primera abarca el periodo durante el que tuve que contactar con determinados centros de investigación y agencias estatales de financiación para estudiar la posibilidad de obtener los recursos necesarios, alrededor de un par de cientos de millones de las antiguas pesetas. El número de secuenciadores en el país se contaba con los dedos de las manos (probablemente de una mano); eran máquinas realmente caras, y muy caro también el coste de los productos químicos correspondientes. Había que concretar y contratar, además, el equipo humano adecuado para llevar a cabo la biología molecular y la biocomputación necesarias. Y todo esto conociendo que nos estábamos moviendo en el contexto de una alta competencia internacional. En el momento de mi propuesta todavía no se había publicado el genoma de ninguna bacteria simbiote. De haber existido entonces algo parecido al actual programa de ayudas del European Research Council, no me cabe duda de que este proyecto hubiera sido uno muy bien evaluado.

La segunda fase, una vez que conté con los recursos económicos y personales adecuados, conllevó entusiasmar con el proyecto a mis propios compañeros. Algo había de giro copernicano en mi propuesta con respecto a lo que veníamos investigando regularmente. Más de uno se mostró escéptico, no tanto porque no encontraran la idea apasionante, sino porque veían que el esfuerzo que suponía llevar adelante una iniciativa de semejantes características estaba condenado al fracaso si, como era de esperar, otros grupos de los EEUU y el Japón, trabajando en lo mismo, acabarían por adelantarse. Acepté el reto, no me amilané y, no sin cierto quijotismo, tiré adelante con algunos de ellos. El esfuerzo fue enorme, también debo decirlo, porque las grandes ideas se resuelven luchando contra las circunstancias que el día a día impone, la administración, la burocracia, los concursos, etc. En fin, tuve que sortear una infinidad de obstáculos que acabaron minando mi salud, aunque no mi voluntad y, desde luego, como para escribir un tratado de sociología del quehacer científico en nuestro país.

Siendo la inteligencia un componente fundamental de la creatividad científica, creo que no es suficiente. Hay que añadirle otro: la voluntad. Tampoco creo que el binomio inteligencia-voluntad asegure el éxito en la carrera científica, pero sí que creo que lo es para poder desarrollar ciencia de altura (4).

¿Cuáles han sido los réditos del proyecto que les acabo de relatar? Pues casi sin solución de continuidad debo manifestar que nos hemos aproximado a dos campos emergentes: la biología sintética (8) y el microbioma (9).

Hoy es palabra de uso común en el campo de la biología sintética el concepto de “célula mínima” o la configuración mínima de genes necesarios para

mantener vida celular independiente (aislada del medio por una membrana, con metabolismo propio y con capacidad de evolucionar (10). Es mucha la información que hemos aportado a ese concepto estudiando bacterias simbióticas con genomas naturales reducidos. Y ahora la célula mínima, algo empíricamente factible, forma parte a su vez de otro concepto, el de “chasis”, una dotación genética dada a la que se le puede añadir cualquier tipo de complemento genético para la fabricación de entes biológicos nuevos, algo con enormes posibilidades en sectores tan estratégicos para la ciencia, la economía y la sociedad, como son la biotecnología, la biorremediación o la biomedicina.

El mundo vivo está plagado de simbiosis y nuestro cuerpo está repleto de microorganismos. Por razones que se pierden en la noche de los tiempos de la lucha contra la enfermedad infecciosa, siempre hemos visto al microorganismo como un agente patógeno. Pero lo cierto es que si tuviéramos que hacer balance, probablemente tendríamos que concluir que es mucho mayor el número de microorganismos con efectos benéficos sobre nuestra salud que el de patógenos con efectos maléficos sobre la misma. Simplemente es que a los beneficiosos no les podíamos prestar la atención que se merecen porque, entre otras cosas, era difícil el poder aislarlos, cultivarlos o identificarlos. Pero el panorama ha cambiado. Con los avances que se han producido en los últimos años en el campo de las diferentes ciencias genómicas hemos asistido al despliegue de un nuevo mundo microbiano fascinante que, en el caso de los humanos, se traduce en el concepto del “microbioma”. Nos encontramos ahora mismo en los comienzos de su estudio y nos estamos quedando atónitos por el importante papel que parecen jugar en nuestra salud. Como tan genialmente lo ha descrito el Dr. Fernando Baquero, el microbioma es ese último órgano ubicuo de nuestro cuerpo por estudiar. No es por lo tanto circunstancial el que dos kilos de nuestro peso corporal sea microbiano ni que el número de genes microbianos sea varios órdenes de magnitud superior al número de genes humanos.

CONCLUSIÓN

La ciencia española se beneficiaría enormemente si el Gobierno, y la sociedad en general, entendiera que el coste que supone su mantenimiento tiene retorno en forma de beneficios de variada índole. Eso es exactamente lo que ocurre en la naturaleza cuando dos organismos entran en simbiosis, pues probablemente la mejor estrategia para la supervivencia de ambos sea la cooperación, es decir, el proporcionarse beneficio mutuo.

REFERENCIAS

1. Ortega y Gasset, J. (1982). *Meditaciones de la técnica y otros ensayos sobre ciencia y filosofía*. Revista de Occidente en Alianza Editorial. Madrid.
2. Heidegger, M. (1999). *Introducción a la filosofía*. Cátedra. València.
3. Moya A. (2011). *Naturaleza y futuro del hombre*. Editorial Síntesis, Madrid.
4. Moya A. (2010). *Pensar desde la ciencia*. Editorial Trotta, Madrid
5. Moya, A., Peretó, J., Gil, R., and Latorre, A. (2008). Learning how to live together: genomic insights into prokaryote-animal symbioses. *Nature Reviews Genetics* 9:218-229
6. Moya A. y Peretó J. (2011). *Simbiosis. Seres que evolucionan juntos*. Editorial Síntesis, Madrid.
7. van Ham, R.C.H.J., Kamerbeek, J., Palacios, C., Rausell, C., Abascal, F., Bastolla, U., Fernández, J.M., Jiménez, L., Postigo, M., Silva, F.J., Tamames, J., Viguera, E., Latorre, A., Valencia, A., Morán, F., and Moya, A. (2003). Reductive genome evolution in *Buchnera aphidicola*. *Proceedings of the National Academy Sciences USA* 100:581-586.
8. Porcar, M., Danchin, A., de Lorenzo, V., Dos Santos, V.A., Krasnogor, N., Rasmussen, S., and Moya, A. (2011). The ten grand challenges of synthetic life. *Systems and Synthetic Biology* 5:1-9.
9. Gosalbes, M.J., Abellán, J.J., Durbán, A., Pérez-Cobas, A.E., Latorre, A., and Moya, A. (2012). Metagenomics of human microbiome: beyond the 16S rDNA. *Clinical Microbiology and Infection* 18 (Suppl. 4):47-49.
10. Gil, R., Silva, F.J., Peretó, J., and Moya, A. (2004). Determination of the core of a minimal bacterial gene set. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68:518-537.

Nuevas estrategias en terapia antitumoral basadas en la inducción de la apoptosis

Cristina Martín Sabroso¹ y Ana Isabel Torres Suárez^{1,2*}

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040, Madrid. ²Instituto de Farmacia Industrial. Universidad Complutense de Madrid.
e-mail: galaaaa@farm.ucm.es

Recibido el 3 de abril de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 2 (2013), pag. 213-228

RESUMEN

Según la OMS para el año 2030 se producirán un total de 11,5 millones de defunciones por cáncer. Una alta proporción de estos tumores serán resistentes a los agentes antineoplásicos actuales, por ello, en los últimos años se ha realizado una intensa labor investigadora en la búsqueda de nuevas dianas para el tratamiento de tumores. Una de las dianas que está ofreciendo más posibilidades es el mecanismo de la apoptosis. La apoptosis se produce en condiciones fisiológicas como un mecanismo regulador del crecimiento de tejidos, en equilibrio con la proliferación celular. Su desregulación podría ayudar a explicar la patogénesis de algunos tumores malignos.

Palabras clave: Apoptosis; Antineoplásicos; Resistencia a fármacos.

ABSTRACT

New strategies in antitumor therapies based on apoptosis induction

According to OMS, in 2030 will be a total of 11.5 million deaths by cancer. A high proportion of these tumors will be resistant to current anticancer agents, and therefore, in the last years an intense investigation has been done to search new targets for antitumor treatment. One of the most interesting targets is the apoptosis mechanism. Apoptosis is produced in physiological conditions as a growth tissue regulator mechanism, in equilibrium with cellular proliferation. Its deregulation could explain the pathogenesis of some malignant tumors.

Keywords: Apoptosis; Anticancer agent; Drug resistant.

1. INTRODUCCIÓN

Según la OMS para el año 2030 el número de nuevos pacientes diagnosticados de cáncer ascenderá a 15,5 millones y se producirán un total de 11,5 millones de defunciones. Una alta proporción de estos tumores serán resistentes a los agentes antineoplásicos actuales, y por ello hoy en día hay numerosas líneas de investigación abiertas para desarrollar nuevos fármacos que superen estas resistencias.

La resistencia a los antineoplásicos puede ser natural o adquirida. La resistencia natural hace referencia a la baja respuesta inicial de un tumor a un determinado fármaco, mientras que la adquirida se refiere a la falta de respuesta que surge tras un tratamiento inicial con éxito. Existen tres características tumorales que parecen determinar la resistencia a la quimioterapia: la cinética de crecimiento, la aparición de mutaciones espontáneas y la bioquímica.

1. Cinética de crecimiento de la masa tumoral: La mayoría de los quimioterápicos actúan sobre las células en división, de manera que cuanto menor sea la fracción en crecimiento, es decir, el porcentaje de células con actividad proliferativa, menor será el número de células presumiblemente sensibles al tratamiento. Por ello, las células que se encuentran fuera del ciclo celular, en la llamada fase G0, serán refractarias a la mayoría de quimioterápicos (1). En los tumores sólidos, el crecimiento se enlentece de forma exponencial, aumentando el número de células en fase G0 según progresa el tumor. Una importante consecuencia de este tipo de crecimiento es que, en el momento del diagnóstico, la mayoría de los pacientes presentan tumores con una baja fracción de crecimiento y, por tanto, con baja sensibilidad a la mayoría de los quimioterápicos.

2. Aparición de mutaciones espontáneas: A través de cambios citogenéticos aleatorios, algunas células tumorales mutan volviéndose resistentes a ciertos fármacos, sin haber tenido contacto previo con ellos. Esta capacidad de resistencia se transmite a las células descendientes, de tal forma que la población celular de un tumor en crecimiento no es homogénea, coexistiendo clones celulares sensibles y resistentes al tratamiento. El número de células resistentes en un tumor en el momento del diagnóstico, se relaciona directamente con su tamaño y su tasa intrínseca de mutación (2,3).

3. Alteración de mecanismos bioquímicos: Pueden aparecer resistencias a quimioterápicos por diferentes razones bioquímicas que incluyen la incapacidad de que en la célula tumoral se transforme el profármaco a su forma activa, la capacidad de la célula tumoral de inactivar el fármaco (modificación del metabolismo intracelular del fármaco), la disminución de la captación del fármaco por parte de la célula tumoral (modificación de barreras fisiológicas, vascularización tumoral alterada...), el aumento de la expulsión del fármaco a

través de la membrana celular (bombas de eflujo), cambios en los niveles o en la estructura de la diana intracelular, o el aumento de la tasa de reparación del ADN dañado.

Actualmente, se están utilizando diferentes estrategias para aumentar la respuesta a los antineoplásicos. Entre ellas se encuentra la detección precoz del tumor ya que si el tumor es de menor tamaño tendrá un mayor porcentaje de células en división y por tanto sensibles al tratamiento. En este sentido, también resulta eficaz la reducción de la masa tumoral mediante cirugía y/o radioterapia, ya que esta reducción aumenta la fracción de células en crecimiento y produce una mayor susceptibilidad a los fármacos.

Es especialmente importante la eliminación de las masas tumorales necróticas a las que, por baja vascularización, no puede llegar suficiente cantidad de fármaco. Para evitar las resistencias debidas a alteraciones bioquímicas se intenta favorecer el acceso del fármaco al tumor desarrollándose sistemas de vectorización. Mediante esta estrategia se persigue una localización selectiva del fármaco a nivel de la célula tumoral reduciéndose, de forma paralela, la toxicidad asociada a estos fármacos.

Se han desarrollados novedosos sistemas que permiten la vectorización pasiva o activa del fármaco a nivel de las masas o incluso el interior de las células tumorales, evitando en muchos casos, los mecanismos naturales de internalización de ese fármaco en la célula. La asociación de quimioterápicos es un recurso también muy utilizado, que ofrece dos ventajas: la suma o potenciación de efectos citotóxicos (se asocian moléculas con diferente mecanismo de acción), y la disminución de la probabilidad de aparición de resistencias (se asocian fármacos con diferentes mecanismos de resistencias).

Por último, en los últimos años se ha realizado una intensa labor investigadora en la búsqueda de nuevas dianas para el tratamiento de tumores que, por un lado resulten eficaces para la eliminación o detención del crecimiento tumoral y que por otro eviten o dificulten la aparición de resistencias. Una de las dianas que está ofreciendo más posibilidades es el mecanismo de la apoptosis. A continuación se presenta una revisión de las más recientes investigaciones en tratamiento antitumoral basadas en el desarrollo de moléculas que actúan sobre el mecanismo de la apoptosis, analizándose la posibilidad de aparición de resistencias y el balance de su aplicación clínica.

2. MECANISMO DE APOPTOSIS

La apoptosis, o muerte celular programada, es un modo específico de muerte, que se caracteriza por cambios morfológicos tales como condensación de la cromatina, la fragmentación del núcleo, la retracción citoplasmática y la emisión

de 'cuerpos apoptóticos', manteniendo aparentemente intactos los orgánulos celulares (4,5). De hecho, la apoptosis regula un mecanismo de muerte celular que implica la participación activa de la célula afectada en la ejecución de su propio programa de muerte (Figura 1). Los eventos morfológicos y bioquímicos de la apoptosis se conocen desde hace mucho tiempo, y, en algunos aspectos, difieren de aquellos que llevan a la necrosis (6). La apoptosis se produce en condiciones fisiológicas como un mecanismo regulador del crecimiento de tejidos, en equilibrio con la proliferación celular (7). La apoptosis se ha convertido en un foco de interés en oncología debido a que su desregulación podría ayudar a explicar la patogénesis de algunos tumores malignos (8).

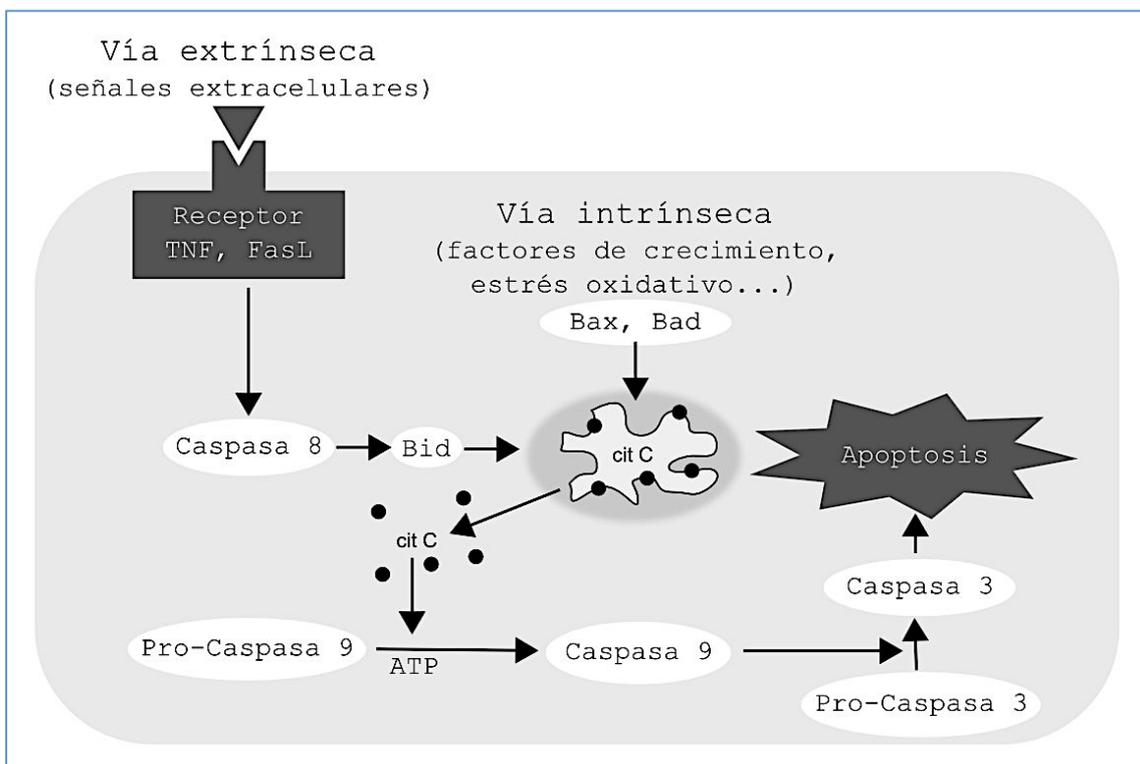


Figura 1.- Mecanismo general de activación de la apoptosis.

3. INDUCTORES DE LA APOPTOSIS

Se han identificado diferentes moléculas capaces de modificar el proceso de la apoptosis en las células tumorales, y que presentan interés como antineoplásicos (Tabla 1). Estos fármacos actúan sobre diferentes dianas moleculares y como consecuencia bien inducen una activación directa de la apoptosis, o bien reducen el umbral de su iniciación por fármacos citotóxicos (9).

Tabla 1.- Fármacos inductores de apoptosis con interés en el tratamiento del cáncer.

Inhibidores de la glutatión S-transferasa	Telcyta 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-iltio)hexanol
Inhibidores de mtor	Temsirolimus Everolimus Deforolimus
Inhibidores de EGFR	Genitinib Erlotinib Cetuximab Matuzumab
Inhibidores de la tubulina	DJ-927 ABT-751 EPO-906 TZT-1027
Otros	Fenoxodiol Inhibidores de c-kit y PDGFR

3.1. Inhibidores de la glutatión S-transferasa (GST)

La glutatión S-transferasa(GST) representa el mayor grupo de enzimas de detoxificación, participando en la fase II de la biotransformación de compuestos tóxicos, exógenos o endógenos, mediante la catalización de reacciones de conjugación en las que se adiciona un grupo polar, el glutatión, a los grupos electrofílicos del tóxico a eliminar, entre los que se incluyen sustancias carcinógenas, dando como resultado un incremento de su solubilidad en agua que favorece su excreción renal.

La GST está también implicada en la regulación de la respuesta de estrés celular y apoptosis, debido a que provoca la inhibición de quinasas, como por ejemplo la jun N-terminal quinasa (JNK). Se han detectado niveles elevados de GST en cáncer de colon, vejiga, estomago, piel, mama, pulmón, bucal y riñón (10,11), en donde forma un complejo con JNK que provoca su inhibición. El estrés oxidativo puede desestabilizar el complejo GST:JNK y causar la activación de la cascada de quinasas que desencadena la apoptosis (12). Esta enzima, también se encuentra implicada en el desarrollo de resistencias de tumores frente diversos fármacos anticancerígenos. Por tanto el uso de inhibidores específicos de la enzima podría potenciar la eficacia de la quimioterapia sobre tumores resistentes a drogas anticancerígenas.

Esta enzima es la diana de algunos de los nuevos agentes antitumorales desarrollados como Telcyta y 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-iltio) hexanol (NBDHEX). El primero es un profármaco sustrato de la enzima, aprovechando su alta concentración a nivel tumoral; sin embargo el segundo es un inhibidor de la GST.

Canfosfamide HCl (Telcyta)

Canfosfamide HCl (Telcyta®) fue diseñado para aprovechar los altos niveles de GST en muchos tumores humanos, lo cual, frecuentemente se asocia con un mal pronóstico y resistencia a ciertos fármacos como agentes alquilantes y compuestos de platino. Canfosfamide HCl (CAN) es un profármaco análogo del glutathione que es activado por GST e induce apoptosis. Tras la activación, la actividad apoptótica de canfosfamide está mediada por la vía de respuesta al estrés, lo que resulta en la inducción de la apoptosis celular. Las células tumorales humanas expuestas a canfosfamide muestran una activación de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP), quinasa MKK4, la quinasa p38, jun N-terminal quinasa (JNK) y la caspasa 3 (13). La actividad citotóxica de canfosfamide se ha demostrado *in vitro* e *in vivo* frente una gran variedad de líneas celulares de cáncer humano. Canfosfamide generalmente, es bien tolerado y presenta pocos efectos adversos.

Canfosfamide ha demostrado no tener resistencia cruzada con platinos, taxanos y antraciclinas, tampoco su toxicidad se solapa con la de estos agentes pero sí posee un efecto sinérgico que hace que estos funcionen mejor en combinación que como agente único. Canfosfamide como agente único no es lo suficientemente activo por ello debe emplearse siempre en combinación con platinos, taxanos y antraciclinas.

6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-iltio) hexanol (NBDHEX)

Un fármaco inhibidor de la GST es 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-iltio) hexanol (NBDHEX). Es un agente hidrófobo que penetra fácilmente a través de la membrana celular y por lo tanto, no es sustrato de las proteínas transportadoras (bombas de eflujo), lo que representa un mecanismo de resistencia del tumor a una variedad de fármacos anticancerosos. NBDHEX posee un importante efecto inhibitorio del crecimiento del melanoma maligno y de otros tipos de tumores, incluidos la leucemia, el cáncer de pulmón y el osteosarcoma (14,15). Este compuesto interrumpe el complejo entre GST y c-Jun N-terminal quinasa (JNK) induciendo la activación de JNK, la detención del ciclo celular y muerte celular (16). Ensayos clínicos indican que la combinación NBDHEX y temozolomida (TMZ) (agente alquilante) redujo significativamente el crecimiento tumoral *in vivo* con respecto a cada medicamento usado de forma individual, sin empeoramiento de la mielotoxicidad del agente alquilante ni retrasó la recuperación de la función de la médula ósea (17).

Las células de melanoma B16 fueron expuestas a diferentes concentraciones de NBDHEX en monoterapia, y los resultados indicaron que este agente tenía efecto apoptótico en las células B16 y que a una concentración de 10 μ M inducía apoptosis en casi el 100% de las células a las 48 h.

3.2. Inhibidores de mtor

mTOR1 (mammalian target of rapamycin), es una serina/Treonina quinasa de 289 kDa, que participa en la vía fosfatidilinositol 3'-quinasa/AKT. Regula múltiples eventos celulares como el crecimiento celular y la proliferación, la diferenciación, la migración, y la supervivencia. Esta proteína está activada en múltiples tumores y su activación es capaz de generar la proliferación celular y de evitar la apoptosis, lo que conduce a su crecimiento desordenado. La rapamicina es un inhibidor de mTOR que actúa formando inicialmente un complejo con una proteína citosólica de 12 kDa, designado FK-506-proteína de unión 12 (FKBP-12), y posteriormente este complejo se une a mTOR inhibiendo su función, lo que desencadena una activación rápida y sostenida de la apoptosis mediante la vía de señalización de la quinasa 1 (18). De esta forma la rapamicina y sus análogos, temsirolimus, RAD001 y AP23573, ahora en ensayos clínicos como agentes anticancerosos, inhiben potentemente la proliferación de células tumorales.

Temsirolimus

Temsirolimus (CCI-779), es un éster derivado de rapamicina con mayor solubilidad en agua. A dosis no tóxicas, temsirolimus presentó actividad antitumoral sobre diversos modelos de cáncer tales como gliomas, rhabdomyosarcomas, meduloblastoma, tumores de cabeza y cuello, líneas celulares de páncreas, próstata y mama (19), obteniéndose un mayor efecto terapéutico cuando se utilizó en combinación con los agentes antineoplásicos que por separado. En 2007 fue aprobado por la FDA como primera línea de tratamiento para el cáncer renal. También se han realizado estudios en fase III para el tratamiento de linfoma y en fase II en cáncer de mama y linfoma mostrando un beneficio frente a otros tratamientos especialmente en el caso del linfoma (20). Los principales efectos secundarios detectados son alteraciones hematológicas, hipercolesterolemia y reacciones alérgicas.

Everolimus

Everolimus (RAD001) es un derivado de la rapamicina de administración oral. Se ha evaluado su actividad antineoplásica en varias líneas celulares tumorales humanas in vitro y en modelos de xenoinjertos in vivo con una IC50 que va de 5 hasta 1800 nM. Se ha demostrado su efecto antineoplásico frente a melanoma, cáncer de pulmón, adenocarcinoma pancreático y carcinoma de colon. Este fármaco posee también actividad antiangiogénica ya que inhibe la proliferación de las células endoteliales vasculares humanas. Los efectos

secundarios detectados a dosis terapéuticas son fatiga, neutropenia, mucositis, hiperglucemia y estomatitis (21). En un estudio en fase II, everolimus ha demostrado actividad antineoplásica en pacientes recién diagnosticados de cáncer de mama. También está siendo evaluado en ensayos con pacientes con cáncer de próstata y neuroendocrinos.

Deforolimus

Deforolimus (AP23573) es el último análogo desarrollado a partir de la rapamicina. Es estable en solventes orgánicos, soluble en agua en un amplio intervalo de pH, así como también en plasma y en sangre, tanto in vivo como in vitro. AP23573 presenta una potente, rápida y prolongada actividad inhibitoria de mTOR, lo que produce una inhibición del crecimiento de diversas líneas tumorales humanas in vitro, ejerciendo este efecto tanto individualmente como en combinación con otros agentes citotóxicos. En un estudio clínico de fase I, se administró por vía intravenosa durante 5 días en intervalos de 24 horas. Durante el primer ciclo de tratamiento se produjo una toxicidad severa tipo 3 limitante de la dosis, consistente en una mucositis oral aguda. Se observaron otros efectos secundarios, aunque de menor intensidad, entre los que destacaron episodios menores o moderados de mucositis, diarrea, anemia, náusea, fatiga, trombocipenia, neutropenia e hiperlipidemia. Se detectó actividad antitumoral preliminar a todas las dosis ensayadas en el estudio. En estudios en fase II en pacientes con sarcoma, deforolimus mostró una tasa de beneficio clínico del 29%; en otro estudio en cáncer de endometrio la tasa de respuesta fue del 9%, al igual que en neoplasias hematológicas (20). Actualmente se están desarrollando estudios en fase III.

3.3. Inhibidores de EGFR

EGFR o receptor del factor de crecimiento epidérmico es un receptor tirosin-quinasa que se activa por ligandos tales como el factor de crecimiento epidérmico (EGF). Esto desencadena la activación de vías de señalización intracelulares, tales como la proteína-quinasa activada por mitógenos (MAPK) y la fosfatidilinositol 3-quinasa (P13K)-AKT, ambas involucradas en la supervivencia y proliferación celular (22,23). Su sobreexpresión en tumores a menudo se correlaciona con mal pronóstico, disminución de la supervivencia y resistencia a la terapia. La desregulación de EGFR (por su sobreexpresión o por una activación excesiva) contribuye a la proliferación, transformación, angiogénesis, invasión, metástasis y la inhibición de la apoptosis en células tumorales (24). Por lo tanto, moléculas inhibidores de este receptor tienen especial interés como agentes antineoplásicos. Se han identificado dos tipos de inhibidores de la señalización de EGFR:

- Moléculas pequeñas como gefitinib (ZD1839) y erlotinib (OS1774) que inhiben el dominio tirosina quinasa intracelular del receptor EGFR (9).

- Anticuerpos monoclonales, como el cetuximab y matuzumab.

Gefitinib

Gefitinib es un inhibidor tirosin-quinasa selectivo de EGFR de administración oral, ampliamente utilizado en el tratamiento del cáncer de pulmón ya que interrumpe las señales mitogénicas y antiapoptóticas responsables de la proliferación celular, el crecimiento, la metástasis y la angiogénesis. Comparado con agentes antineoplásicos citotóxicos, gefitinib ofrece unas tasas de supervivencia y beneficios equivalentes, pero proporciona una mejor calidad de vida en pacientes con enfermedad avanzada. Sin embargo este beneficio puede variar debido a mutaciones en el receptor EGFR, obteniéndose mejores resultados en mujeres, no fumadores y asiáticos. Gefitinib es bien tolerado y los efectos adversos más comunes, tales como erupciones cutáneas y diarrea, son de gravedad leve, aunque en algunos casos se ha desarrollado enfermedad pulmonar intersticial (ILD). La aprobación de gefitinib como tratamiento de primera elección en Asia desde julio de 2002 para el tratamiento de cáncer de pulmón, se basa en un estudio en fase III que demostró una supervivencia superior, una mayor tasa de respuesta, mejora de la tolerabilidad y significativa mejora de la calidad de vida para los pacientes tratados con gefitinib en comparación con la doble quimioterapia de carboplatino/paclitaxel (25). Sin embargo, desde su aprobación han sido notificados varios casos mortales de ILD. La incidencia de ILD durante el tratamiento con gefitinib varió entre los diferentes grupos étnicos, detectándose la incidencia más alta en la raza japonesa (incidencia acumulada del 4%), mientras que en el resto del mundo fue del 1%. La ILD inducida por gefitinib puede ser mortal en un 30-40% de los casos (26).

Erlotinib

Erlotinib (Tarceva®) es un fármaco de administración oral, inhibidor de la tirosin-quinasa selectivo de EGFR. Estudios *in vitro* e *in vivo*, muestran que erlotinib tiene actividad frente a diversos tipos de tumores como colorrectal, pulmón, cabeza, cuello y páncreas. La eficacia antitumoral de erlotinib se ha investigado en clínica como agente único y en combinación con otros agentes. Erlotinib se emplea en cáncer de pulmón tras el fracaso de al menos un régimen de quimioterapia. En un ensayo de fase III, la adición de erlotinib a gemcitabina mejoró la supervivencia en el cáncer de páncreas avanzado. Indicios alentadores de actividad antitumoral también se han observado en varios estudios de fase II en los que se utilizó erlotinib como monoterapia en cáncer de cabeza y cuello, colorrectal, hepatocelular, gastroesofágico biliar y cáncer de ovario. Los efectos adversos detectados en estos estudios fueron hepatitis inducida por medicamentos, enfermedad pulmonar intersticial, síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis epidérmica tóxica (27).

Cetuximab

Cetuximab es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une con alta afinidad y especificidad al dominio extracelular del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Esto interfiere con la regulación de la cascada de señalización, lo que conduce a la inhibición de la proliferación celular, angiogénesis y metástasis. Clínicamente, la radioterapia en combinación con cetuximab demuestra una clara ventaja sobre la radioterapia como tratamiento único. Cetuximab potencia la radiosensibilidad de las células tumorales a través de múltiples mecanismos: inhibición de la proliferación de células cancerosas, perturbación del ciclo celular y acumulación de células en fases radiosensibles, e inducción de apoptosis y necrosis. Cetuximab es generalmente bien tolerado, aunque se ha asociado con toxicidad dermatológica incluyendo xerosis, cambios en las uñas, el pelo, telangiectasia o arañas vasculares y erupciones (28). Cetuximab está aprobado para el cáncer de cabeza y cuello, y en 2009 fue aprobado por la FDA para el tratamiento de cáncer colorrectal metastático refractario, ya sea en combinación con irinotecán o como monoterapia (29), dicha aprobación recoge que este fármaco sólo puede usarse en aquellos casos en los que no exista una mutación en el gen KRAS. Este gen codifica una pequeña proteína G de la ruta de EGFR, de tal forma que en 2012, la FDA, aprobó un test genético para detectar de forma rutinaria siete tipos de mutaciones en el gen KRAS, permitiendo así dirigir de forma adecuada el tratamiento antineoplásico. Este efecto se detecta exclusivamente para el tratamiento del cáncer colorrectal y también se produce con otros inhibidores de EGFR.

Matuzumab

Matuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 que se une a EGFR con alta afinidad. Matuzumab ha sido evaluado en cáncer de cabeza y cuello, gástrico, colorrectal, esofágico, cervical y de pulmón. Un estudio preclínico en líneas celulares muestra que aunque matuzumab se une de manera eficiente a EGFR y bloquea su fosforilación, no es tan eficaz como cetuximab a la hora de inhibir la proliferación de células tumorales. Estudios en fase II de matuzumab en mujeres con cáncer de ovario resistente a platinos muestra que el fármaco tiene un perfil de toxicidad favorable, observándose erupción acneiforme, erupción cutánea, náuseas, vómitos y diarrea aunque con una incidencia más baja que la obtenida con cetuximab (30).

3.4. Inhibidores de la tubulina

Existe una gran cantidad de moléculas capaces de unirse a la tubulina e interferir en el mecanismo de formación de los microtúbulos, de manera que las células detienen su ciclo celular y desencadenándose la apoptosis. Los compuestos que modulan la actividad de tubulina pueden dividirse de forma general en dos

grandes grupos: los inhibidores de su polimerización, como la colchicina y la vincristina, que se unen a ésta impidiendo que forme microtúbulos; y los agentes estabilizantes de microtúbulos, como el paclitaxel y el docetaxel, que se unen preferentemente a la tubulina ensamblada, minimizando la disociación de la tubulina-GDP de los extremos de los microtúbulos e induciendo el ensamblaje de la tubulina-GDP normalmente inactiva. El éxito clínico del paclitaxel y el docetaxel ha conducido a la búsqueda de nuevos compuestos con el mismo mecanismo de acción y al descubrimiento en los últimos años de una gran cantidad de agentes estabilizantes de microtubulos con al menos dos sitios de unión distintos.

DJ-927

DJ-927 es un nuevo taxano que tiene como ventajas su alta hidrosolubilidad (elimina la necesidad de emplear vehículos tóxicos, minimizando el riesgo de reacciones de hipersensibilidad), su elevada biodisponibilidad oral y una potente actividad antitumoral. Su mecanismo de acción implica la inhibición de la tubulina lo que causa detención de la división de ADN en la célula y apoptosis. Este compuesto exhibió una citotoxicidad mayor que los taxanos existentes tales como paclitaxel y docetaxel contra diversos tipos de tumores, especialmente en modelos de cáncer colorrectal. En particular, DJ-927 muestra una marcada eficacia en ensayos, *in vitro* e *in vivo*, con células tumorales que presentan una la resistencia intrínseca o adquirida a taxanos desarrollada por expresión de bombas de eflujo como la glicoproteína P (P-gp). En estudios en fase II como tratamiento de segunda línea para pacientes con cáncer colorrectal tras fallo de irinotecán u oxaliplatino, y en pacientes con cáncer gástrico avanzado que no han respondido a 5-fluoruracilo, el tratamiento fue bien tolerado, alcanzándose una respuesta positiva en el 40% de los casos (31).

ABT-751

ABT-751 es un agente citotóxico novedoso, de administración oral, que se une a la tubulina e inhibe la polimerización de los microtúbulos, lo que conduce a un bloqueo en la fase G₂/M en el ciclo celular y a la apoptosis celular. ABT-751 inhibe la proliferación de diversas líneas celulares humanas derivadas de tumores, incluyendo los fenotipos resistentes a paclitaxel y doxorubicina (32). Una vez administrado, ABT-751 se absorbe rápidamente alcanzándose la concentración máxima (C_{max}) a las 3 h y con una semivida de 4,4 a 16,6 h. La toxicidad producida por ABT-751 fue determinada en un estudio en fase I, detectándose neuropatía periférica, estreñimiento, fatiga y mialgia. ABT-751 está actualmente en ensayos fase II para el cáncer de mama recurrente, cáncer renal, cáncer colorrectal y de pulmón.

EPO-906

EPO-906 (epotilona B) es un miembro de una nueva clase de agentes estabilizantes de microtúbulos conocidos como las epotilonas. EPO906 promueve la polimerización de los heterodímeros de tubulina y estabiliza los microtúbulos contra la despolimerización, provocando la detención del ciclo celular mitótico y la muerte celular por apoptosis (32). En estudios preclínicos, EPO906 muestra actividad anticancerígena tanto in vitro como in vivo contra varios tipos de cáncer, incluyendo modelos resistentes a paclitaxel. Es importante destacar que, EPO906 actúa sobre células que han desarrollado resistencia por sobre-expresión de glicoproteína-P o bomba de eflujo. En estudios clínicos en fase I se observó que el efecto tóxico limitante de dosis fue la diarrea. Los ensayos se realizaron en pacientes con cáncer de colon, mama, pulmón y ovario, incluyendo pacientes que habían recibido taxanos previamente. Posteriormente, se realizaron dos estudios en fase II en monoterapia para cáncer de ovario, próstata, mama y cáncer renal, observándose respuesta antitumoral en todos los casos. En consecuencia, los estudios preclínicos y clínicos indican que EPO906 tiene un espectro relativamente amplio de actividad, incluyendo los tumores resistentes a paclitaxel.

TZT-1027

TZT-1027 es un derivado de dolastatina-10, que fue seleccionado por su alta actividad antitumoral in vitro. TZT-1027 se desarrolló como un nuevo agente inhibidor de la polimerización de la tubulina mediante su unión a los microtúbulos, impidiendo la división celular y activando la apoptosis de las células tumorales, como los alcaloides de la vinca y los taxanos, pero los experimentos in vitro mostraron que además de este efecto de citotoxicidad directa, era capaz de inhibir la angiogénesis del tumor, una actividad que no se ve con los alcaloides vinca o taxanos (33,34). En un estudio en fase I se pudo determinar que la toxicidad limitante de dosis fue debida a neutropenia, neuropatía periférica, leucopenia y fatiga. Los resultados de un estudio en fase II desarrollado en 32 pacientes con cáncer de pulmón mostraron un aumento en la supervivencia global de las pacientes (35).

3.5. Otros agentes inductores de apoptosis

Fenoxodiol

Fenoxodiol es una isoflavona sintética que ha demostrado actividad antitumoral frente a cáncer de ovario, y que se encuentra en ensayos en fase I para cáncer de próstata y de cérvix. A pesar de la progresión en los ensayos clínicos, la diana sobre la que actúa fenoxodiol no está muy clara, más bien, se cree que regula múltiples señales de transducción. Estudios mecanísticos han demostrado que fenoxodiol inhibe la ADN topoisomerasa II e induce la apoptosis. Esta apoptosis puede desencadenarse de forma dependiente o independiente de caspasas en

función del tipo celular. Así se ha descrito un mecanismo dependiente de caspasas en las células de cáncer de ovario, a través de la vía de transducción de señal de Akt (36), mientras que en otros tipos de cáncer (cabeza, cuello y colon) fenoxodiol induce apoptosis independiente de caspasas por expresión de p21WAF1 (37). Otro mecanismo por el que se cree que actúa fenoxodiol es por alteración del ciclo redox esencial de las células. El control del equilibrio redox intracelular es crítico para la viabilidad celular, de manera que la perturbación de los principales pares redox tales como la relación NADH/NAD⁺ o el glutatión puede tener profundos efectos sobre las células desencadenándose la apoptosis.

La mayoría de los casos de cáncer de ovario con quimioresistencia a platino y taxanos se asocian a la sobreexpresión de factores antiapoptóticos. Fenoxodiol, *in vitro*, induce apoptosis en células de cáncer de ovario quimioresistentes y restaura la sensibilidad a la quimioterapia de platino, taxanos y topotecan en células quimioresistentes. Estos datos apoyan el estudio en fase II de fenoxodiol llevado a cabo en 40 mujeres con cáncer de ovario quimiorresistente. El fenoxodiol se administró en terapia combinada con taxanos o paclitaxel, y los resultados indicaron que la administración de fenoxodiol da lugar a mayores tasas de respuesta entre las mujeres con cáncer de ovario quimioresistente.

Inhibidores de c-Kit y PDGFR

c-kit (receptor del factor de células madre) y PDGFR (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas) son receptores tirosin-quinasa que estimulan el crecimiento de la célula tumoral, la angiogénesis y la vasculogénesis. c-Kit y PDGFR, así como sus respectivos ligandos están sobre-expresados en un 70% de los cánceres de ovario (38). Las mutaciones de c-kit en las células intersticiales de Cajal en el tracto digestivo son probablemente la clave del 85% de los tumores del estroma gastrointestinal, ya que estas mutaciones desencadenan cascadas de señalización que promueven la proliferación celular y supervivencia. Las mutaciones de PDGFR están implicadas en un 5% de estos tumores.

Imatinib (STI-571, Gleevec®) es una molécula pequeña inhibidora de c-kit, PDGFRA, PDGFRB y de la proteína de fusión BCR-ABL, que ha revolucionado el pronóstico de los pacientes con tumor del estroma gastrointestinal, con un beneficio clínico en el 85% de los casos. Sin embargo un alto porcentaje de los pacientes tratados con imatinib acaban desarrollando resistencia (10-20% muestran resistencia natural y un 50% resistencia adquirida), lo que ha llevado a la necesidad de emplear imatinib en combinación con otro agente antineoplásico con el fin de superar las resistencias a este fármaco. En este sentido, se ha observado que su combinación con un agente proapoptótico potencia la muerte celular y previene de la resistencia a imatinib (39). Esto ha llevado a nuevos estudios sobre el mecanismo de acción de imatinib, determinándose que induce apoptosis en una serie de tumores como leucemia, leucemia mielógena, estroma

gastrointestinal, cáncer ganglionar de la retina y glioblastoma. La apoptosis se manifiesta a través de la fragmentación nuclear, la degeneración de la membrana mitocondrial y la activación de las caspasas.

4. CONCLUSIÓN

La búsqueda de nuevas dianas para el tratamiento de tumores pretende, por un lado una mayor eficacia en la eliminación o detención del crecimiento tumoral y por otro evitar o dificultar la aparición de resistencias. Los nuevos agentes antineoplásicos con actividad proapoptótica, han demostrado en diversos ensayos clínicos en los que se ha evaluado como monoterapia que son capaces de disminuir el tamaño de la masa tumoral en diferentes tipos de cáncer, incluso en tumores resistentes a otros tratamientos; pero también se ha demostrado que muchos de ellos ofrecen un efecto sinérgico al utilizarse en combinación con los agentes antineoplásicos actuales evitando incluso la resistencia de las células tumorales hacia estos últimos.

5. AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por la Consejería de Educación de la Comunidad de Madrid y el Fondo Social Europeo mediante el Plan Regional de Investigación Científica e Innovación Tecnológica; y por el Programa de Grupos de Investigación Santander-UCM GR35/10, Grupo: Administración parenteral de medicamentos.

6. REFERENCIAS

1. Chu, E.; DeVita VT. (2001) Principles of Cancer Management: Chemotherapy. Cancer, Principles and Practice of Oncology, 6th Edition. Philadelphia; p 289-386.
2. Goldie, JH.; Coldman, AJ. (1979) A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate. Cancer treat Rep 63, 1727-1731.
3. Skipper, HE.; Simpson-Herren, L. (1985) Relationship Between Tumor Stem Cell Heterogeneity and Responsiveness to Chemotherapy. Important Advances in Oncology. Philadelphia; p 63-77.
4. Arends, MJ.; Wyllie, AH. (1991) Apoptosis: Mechanisms and roles in pathology. Int Rev exp Pathol 32, 223-254.
5. Wyllie, AH. (1992) Apoptosis and the regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues: an overview. Cancer Metast Rev 11, 95-103.
6. Gershenson, LE.; Rotello, RJ. (1992) Apoptosis: a different type of cell death. FASEB J 6, 2450-2455.
7. Parchment, RE. (1993) The implications of a unified theory of programmed cell death, polyamines, oxyradicals, and histogenesis in the embryo. Int J Dev Biol 37, 75-83.
8. Sachs, L.; Lotem, J. (1993) Control of programmed cell death in normal and leukemic cells: new implications for therapy. Blood 82, 15-21.
9. Agarwal, R.; Linch, M.; Kaye, SB. (2006) Novel therapeutic agents in ovarian cancer. Eur J Surg Oncol 32, 875-886.

10. Satyam, A.; Hocker, MD.; Kane-Maguire, KA.; Morgan, AS.; Villar, HO.; Lyttle, MH. (1996) Design, synthesis, and evaluation of latent alkylating agents activated by glutathione S-transferase. *J Med Chem* 39(8), 1736-1747.
11. Lyttle, MH.; Satyam, A.; Hocker, MD.; et al. (1994) Glutathione-S-transferase activates novel alkylating agents. *J Med Chem* 37(10), 1501-1507.
12. Thévenin, AF.; Zony, CL.; Bahnson, BJ.; Colman, RF. (2011) GSTpi modulates JNK activity through a direct interaction with JNK substrate, ATF2. *Protein Sci* 20(5), 834-848.
13. Vergotea, I.; Finklerb, N.; Del Campoc. J. et al. (2009) Phase 3 randomised study of canfosfamide (Telcyta®, TLK286) versus pegylated liposomal doxorubicin or topotecan as third-line therapy in patients with platinum-refractory or -resistant ovarian cancer. *Eur J Cancer* 45, 2324-2332.
14. Turella, P.; Filomeni, G.; Dupuis, ML. et al. (2006) A strong glutathione S-transferase inhibitor overcomes the p-glycoprotein-mediated resistance in tumour cells. 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol (NBDHEX) triggers a caspase-dependent apoptosis in MDR1-expressing leukemia cells. *J Biol Chem* 281, 23725-23732.
15. Filomeni, G.; Turella, P.; Dupuis, ML. et al. (2008) 6-(7-nitro-2, 1, 3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol, a specific glutathione S-transferase inhibitor, overcomes the multidrug resistance (MDR)-associated protein 1-mediated MDR in small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther* 7, 371-379.
16. Pellizzari Tregno, F.; Sau, A.; Pezzola, S. et al. (2009) In vitro and in vivo efficacy of 6-(7-nitro-2, 1, 3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol (NBDHEX) on human melanoma. *Eur J Cancer* 45, 2606-2617.
17. Tentori, L.; Dorio, AS.; Mazzon, E.; Muzi, A.; Sau, A.; Cuzzocrea, S. et al. (2011) The glutathione transferase inhibitor 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol (NBDHEX) increases temozolomide efficacy against malignant melanoma. *Eur J Cancer* 45, 1219-1230.
18. Huang, S.; Shu, L.; Easton, J. et al. (2004) Inhibition of Mammalian Target of Rapamycin Activates Apoptosis Signal-regulating Kinase 1 Signaling by Suppressing Protein Phosphatase 5 Activity. *J Biol Chem* 279(35), 36490-36496.
19. Temkin, SM.; Yamada, SD.; Fleming, GF. (2010) A phase I study of weekly temsirolimus and topotecan in the treatment of advanced and/or recurrent gynecologic malignancies. *Gynecol Oncol* 117, 473-476.
20. Yap, TA.; Garrett, MD.; Walton, MI.; Raynaud, F.; De Bono, JS.; Workman, P. (2008) Targeting the PI3K-AKT-mTOR pathway: progress, pitfalls, and promises. *Curr Opin in Pharmacol* 8, 393-412.
21. Strimpakos, AS.; Karapanagiotou, EM.; Saif, MW.; Syrigos, KN. (2009) The role of mTOR in the management of solid tumors: An overview. *Cancer Treat Rev*; 35:148-159.
22. Ciardiello F. (2005) Epidermal growth factor receptor inhibitors in cancer treatment. *Future Oncol* 1(2), 221-234.
23. Salomon, DS.; Brandt, R.; Ciardiello, F. et al. (1995) Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol/Hematol* 19, 183-232.
24. Dummer Meira, D.; Nóbrega, I.; De Almeida, VH.; Mororo, JS.; Cardoso, AM.; Silva, R. (2009) Different antiproliferative effects of matuzumab and cetuximab in A431 cells are associated with persistent activity of the MAPK pathway. *Eur J Cancer* 45, 1265-1273.
25. Oh, IJ.; Jung-Ban, H.; Kim, KS.; Kim, YC. (2012) Retreatment of gefitinib in patients with non-small-cell lung cancer who previously controlled to gefitinib: A single-arm, open-label, phase II study. *Lung Cancer* 77, 121-127.
26. Chang, SC.; Chang, CY.; Chang, SJ.; Yuan, MK.; Lai, YC.; Liu, YC. (2013) Gefitinib-Related Interstitial Lung Disease in Taiwanese Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer* 14(1), 55-61.

27. Luo, Q.; Gu, Y.; Zheng, W. et al. (2011) Erlotinib inhibits T-cell-mediated immune response via down-regulation of the c-Raf/ERK cascade and Akt signaling pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 251, 130-136.
28. Duffour, J.; The´zenas, S.; Dereure, O. et al. (2010) Inter-observer agreement between dermatologists and oncologists in assessing dermatological toxicities in patients with metastatic colorectal cancer treated by cetuximab-based chemotherapies: A pilot comparative study. *Eur J Cancer* 46, 3169-3174.
29. Dinh, P.; Harnett, P.; Piccart-Gebhart, MJ.; Awada, A. (2008) New therapies for ovarian cancer: Cytotoxics and molecularly targeted agents. *Crit Rev Oncol/hematol*; 67:103-112.
30. Seiden MV, Burris HA, Matulonis U, et al. A phase II trial of EMD72000 (matuzumab), a humanized anti-EGFR monoclonal antibody, in patients with platinum-resistant ovarian and primary peritoneal malignancies. *Gynecol Oncol* 104, 727-731 (2007).
31. Ismael. GF.; Dornelles. D.; Mano, MS.; Awada. A. (2008) Novel cytotoxic drugs: Old challenges, new solutions. *Cancer Treat Rev* 34, 81-91.
32. Hotta, K.; Ueok, H. (2005) New cytotoxic agents: a review of the literature. *Crit Rev Oncol/hematol* 55, 45-65.
33. Natsume, T.; Watanabe, J.; Koh, Y. et al. (2003) Antitumor activity of TZT-1027 (soblidotin) against vascular endothelial growth factor secreting human lung cancer in vivo. *Cancer Sci* 94, 826-833.
34. Natsume T, Watanabe J, Koh Y, et al. (2003) Antitumor activity of TZT-1027 (Soblidotin) against vascular endothelial growth factor-secreting human lung cancer in vivo. *Cancer Sci* 94, 826- 833.
35. Riely, GJ.; Gadgeel, S.; Rothman, I.; Saidman, B.; Sabbath, K.; Feit, K. (2007) A phase 2 study of TZT-1027, administered weekly to patients with advanced non-small cell lung cancer following treatment with platinum-based chemotherapy. *Lung Cancer* 55, 181-185.
36. Kamsteeg, M.; Rutherford, T.; Sapi, E.; et al. (2003) Phenoxodiol –an isoflavone analog– induces apoptosis in chemoresistant ovarian cancer cells. *Oncogene* 22(17), 2611-2620.
37. Agüero, MF.; Facchinetti, MM.; Sheleg, Z.; Senderowicz, AM. (2005) Phenoxodiol, a novel isoflavone, induces G1 arrest by specific loss in cyclin-dependent kinase 2 activity by p53-independent induction of p21WAF1/CIP1. *Cancer Res* 65(8), 3364-3373.
38. Tonary, AM.; Macdonald, EA.; Faught, W. et al. (2000) Lack of expression of c-Kit in ovarian cancers is associated with poor prognosis. *Int J Cancer* 89(3), 242-250.
39. Reynoso, D.; Nolden, LK.; Yang, D.; et al. (2011) Synergistic induction of apoptosis by the Bcl-2 inhibitor ABT-737 and imatinib mesylate in gastrointestinal stromal tumor cells. *Mol Oncol* 5, 93-104.

Malformaciones neuroquirúrgicas del Sistema Nervioso Central

Gregorio Rodríguez Boto

Servicio de Neurocirugía. Hospital Clínico San Carlos. Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.
e-mail: grboto@yahoo.es

Recibido el 31 de mayo de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 2 (2013), pag. 229-240

RESUMEN

Este trabajo de revisión realiza, antes que nada, una presentación de la Neurocirugía, como especialidad quirúrgica. Se exponen las principales patologías relacionadas con la misma, tanto craneoencefálicas (traumatismos, tumores, hidrocefalias y patología vascular, principalmente) como raquímedulares (patología degenerativa, traumatismos y tumores). Además, se hace referencia a las malformaciones neuroquirúrgicas del Sistema Nervioso Central y a la Neurocirugía funcional. Finalmente, se añaden algunas consideraciones en lo referente a la patología neuroquirúrgica del Sistema Nervioso Periférico y Autónomo.

Palabras clave: Neurocirugía; Cirugía; Medicina.

ABSTRACT

Neurosurgical malformations of the Central Nervous System

This review article carries out, first and foremost, a presentation of the Neurosurgery, as surgical speciality. The main pathologies related to the Neurosurgery are exposed, both cranium-brain (injuries, tumours, hydrocephalus and vascular disease, mainly) and spine-spinal cord (degenerative disease, injuries and tumours). Moreover, this paper alludes to the neurosurgical malformations in the Central Nervous System and to the functional Neurosurgery. Finally, some considerations regarding the neurosurgical pathology of the Peripheral and Autonomic Nervous System are included.

Keywords: Neurosurgery; Surgery; Medicine.

1. LA NEUROCIRUGÍA COMO ESPECIALIDAD QUIRÚRGICA

La Neurocirugía, como especialidad quirúrgica, contempla el tratamiento de pacientes adultos o pediátricos con trastornos del Sistema Nervioso que comprenden la patología del encéfalo, las meninges, el cráneo y sus aportes vasculares, incluyendo las arterias carótidas y vertebrales, la patología de la hipófisis, la patología de la médula espinal, la columna vertebral y sus meninges, así como la patología de los nervios periféricos en toda su extensión (1-3).

De forma oficial, el programa docente de Neurocirugía elaborado por la Comisión Nacional de la Especialidad, define ésta como “aquella disciplina de la Medicina y especialidad de la Cirugía que se ocupa del estudio y tratamiento (esto es, prevención, diagnóstico, evaluación, terapéutica, cuidado intensivo y rehabilitación), de las enfermedades quirúrgicas o potencialmente quirúrgicas del Sistema Nervioso Central, Periférico y Autónomo, incluyendo sus cubiertas, vascularización y anejos como la hipófisis, así como del manejo operatorio y no operatorio del dolor, cualquiera que sea la edad del paciente” (1-3).

De forma histórica, cabe reseñar que si bien los primeros pasos de mi especialidad fueron dados por cirujanos generales, sólo surgió una auténtica Neurocirugía cuando el conocimiento y estudio del Sistema Nervioso, pudiera llamarse Neurología, se igualó o antepuso a la habilidad técnica de aquéllos. De ese modo, la Neurología y la Cirugía son las dos especialidades que convergieron fusionándose en el devenir de una nueva, la Neurocirugía. Pero más aún, la Neurocirugía se encuentra íntimamente ligada a todas las ciencias relacionadas con el Sistema Nervioso: Neuroanatomía, Neurohistología, Neuropatología, Neurofisiología, Neurorradiología, Psiquiatría y otras.

Estas disciplinas no pueden considerarse como límites o fronteras de la Neurocirugía, pues de ellas se sirve y a ellas impulsa, de tal manera que todas y cada una de ellas se integran en mayor o menor grado, histórica y conceptualmente, en la misma Neurocirugía. Por si fuera poco, es bien sabido que estos límites o fronteras son siempre cambiantes según se van desarrollando y ampliando los conocimientos científicos. Además y por razones obvias, es indudable que mi especialidad se relaciona directamente con otras especialidades médicas como la Traumatología, la Cirugía Maxilofacial, la Otorrinolaringología, la Cirugía Plástica, la Anestesia y Reanimación y otras. Pero también y por extensión, con otras disciplinas del saber, como el Humanismo, las Ciencias Exactas y Físicas, la Biología, la Veterinaria y por supuesto, la Farmacia (1-3).

2. PATOLOGÍAS CRANEOENCEFÁLICAS

2.1. Traumatismos

Quizás, la patología traumática craneal sea una de las enfermedades más antiguas de la historia de la humanidad, tan clásica como el hombre mismo. Además, puede decirse que es probablemente la patología neuroquirúrgica por antonomasia. Los traumatismos craneoencefálicos (TCE) constituyen uno de los principales problemas médicos en los países industrializados, siendo consecuencia en su inmensa mayoría, de los accidentes de tráfico. Debemos considerar, además, que un elevado número de los pacientes que sobreviven a estos accidentes van a presentar graves secuelas neurológicas que en su mayor parte serán permanentes. De hecho, el TCE grave es la causa más frecuente de morbi-mortalidad en sujetos menores de 40 años, en los países industrializados. Su incidencia en nuestro país, se estima entre 200 y 400 casos por 100.000 habitantes y año, de los cuales, el 10% son graves (Figura 1). Para su clasificación, manejo terapéutico y fines pronósticos, se ha hecho imprescindible la “Escala de coma de Glasgow”. Además, en estos pacientes es crucial la monitorización cerebral para poder tratar adecuadamente la hipertensión intracraneal acompañante (4,5).

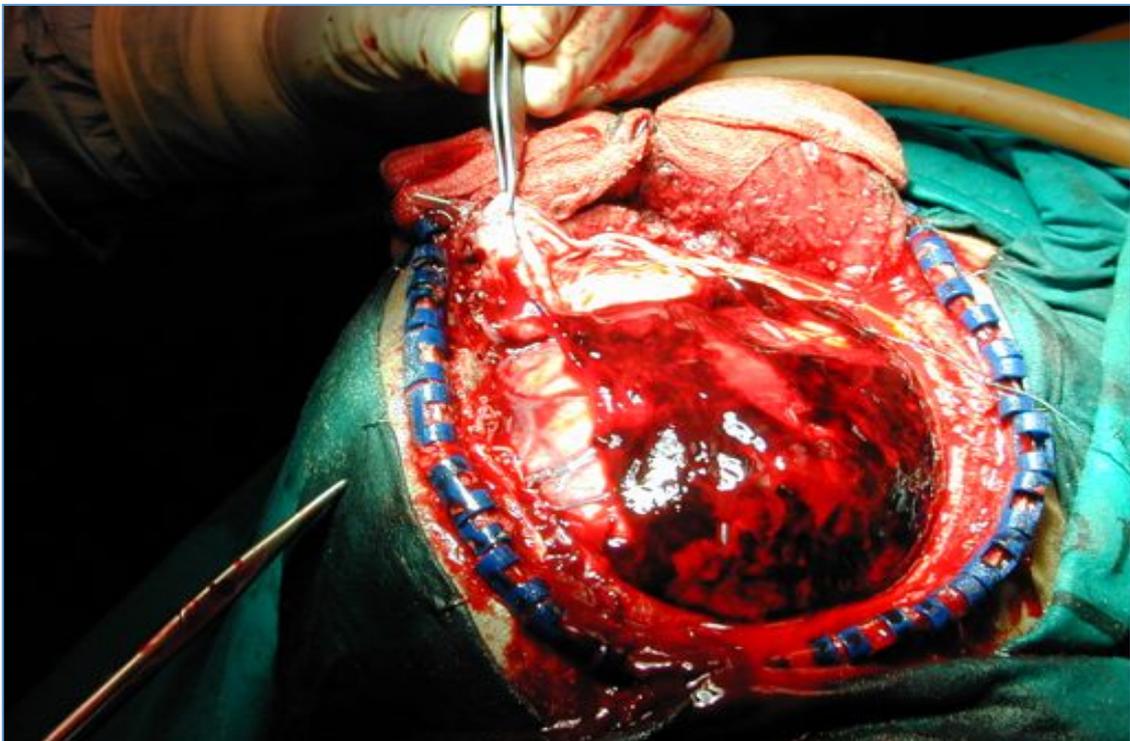


Figura 1.- Traumatismo craneoencefálico. Fotografía intraoperatoria de un paciente que está siendo intervenido de un hematoma subdural agudo postraumático.

2.2. Tumores

La incidencia de los tumores cerebrales oscila entre 5 y 10 casos anuales por cada 100.000 habitantes y aproximadamente la mitad de ellos derivan de las

células gliales (astrocitos, oligodendrocitos, células ependimarias), por lo que se denominan genéricamente “gliomas”. El 50% de los gliomas serán glioblastomas, la neoplasia primaria más frecuente del Sistema Nervioso Central, cuyo pronóstico es infausto (Figura 2). Sin embargo, de forma aislada, la neoplasia cerebral más frecuente va a ser la metástasis (30% del total). Existen además otras estructuras intracraneales como las meninges, los plexos coroideos, la hipófisis, la glándula pineal, etc., que pueden ser origen de neoplasias. Especial relevancia tienen los tumores cerebrales en la edad infantil, que generalmente asientan en la fosa posterior. En los niños, los tumores intracraneales son la segunda neoplasia del organismo en frecuencia (20%), tras las leucemias, y los tumores sólidos más frecuentes (50%). Desde un punto de vista fisiopatológico, el cuadro clínico de un tumor intracraneal va a estar condicionado fundamentalmente por la existencia de un conflicto de espacio, ya que las estructuras nerviosas en las cuales se desarrollan están contenidas en una estructura rígida, la calota craneal. Este conflicto de espacio se traduce por un cuadro de hipertensión intracraneal, caracterizado por cefalea, vómitos, obnubilación progresiva, edema de papila, diplopia, etc., y se verá matizado clínicamente por factores que van a depender, por una parte, de la biología de cada tipo tumoral (que condicionará la rapidez de instauración del cuadro en función de la mayor o menor malignidad) y por otra, de su localización anatómica dentro del encéfalo (que determinará la aparición de síntomas y signos focales, el posible desarrollo de hidrocefalia por interferencia en la circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR), etc.) (4,5).

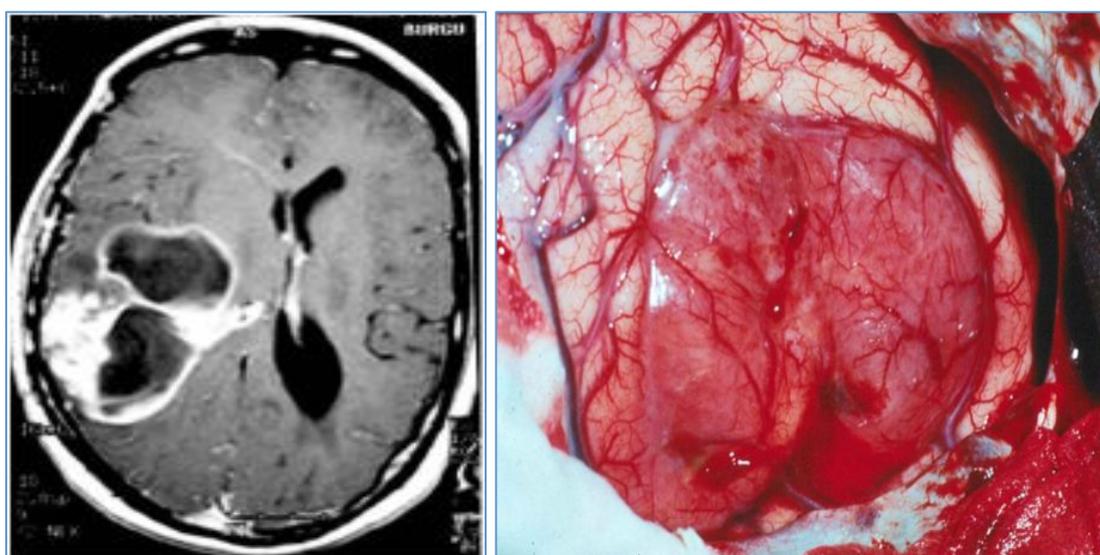


Figura 2.- Tumor cerebral. **2a.-** Corte axial de resonancia magnética en la que se identifica un tumor en la región parietal derecha. **2b.-** Resección quirúrgica del mismo.

2.3. Hidrocefalias

El término *hidrocefalia* fue introducido por Hipócrates para describir un estado patológico caracterizado por la presencia de gran cantidad de líquido

intracraneal. De este modo, la hidrocefalia supone un desequilibrio entre la producción y la reabsorción del LCR, en la que se produce una dilatación del sistema ventricular. Una clasificación de las hidrocefalias que se utiliza comúnmente es la de “hidrocefalias comunicantes” e “hidrocefalias no comunicantes”. Las “comunicantes” serían aquellas en las que hay libre paso desde el sistema ventricular al espacio subaracnoideo y su problema fundamental estriba en la dificultad para reabsorber el LCR (hipo-reabsortivas). Por el contrario, en las “no comunicantes” existe una obstrucción al paso del LCR en cualquier punto del sistema ventricular y por eso, a estas hidrocefalias se les llama también hidrocefalias “obstructivas” (Figura 3). Otra forma de clasificar las hidrocefalias atiende a la presión intracraneal: así tenemos hidrocefalias con aumento de esta presión que se denominan “hipertensivas o hiperpresivas” (típicamente las obstructivas) e hidrocefalias “normotensivas o normopresivas” (las hipo-reabsortivas propias del adulto o mejor dicho, del anciano). Mención aparte merece el término de “hidrocefalia ex-vacuo”, que se emplea para designar la dilatación ventricular que aparece en pacientes de edad avanzada, como consecuencia de la atrofia cerebral, y que no puede considerarse como una verdadera hidrocefalia (4,5).

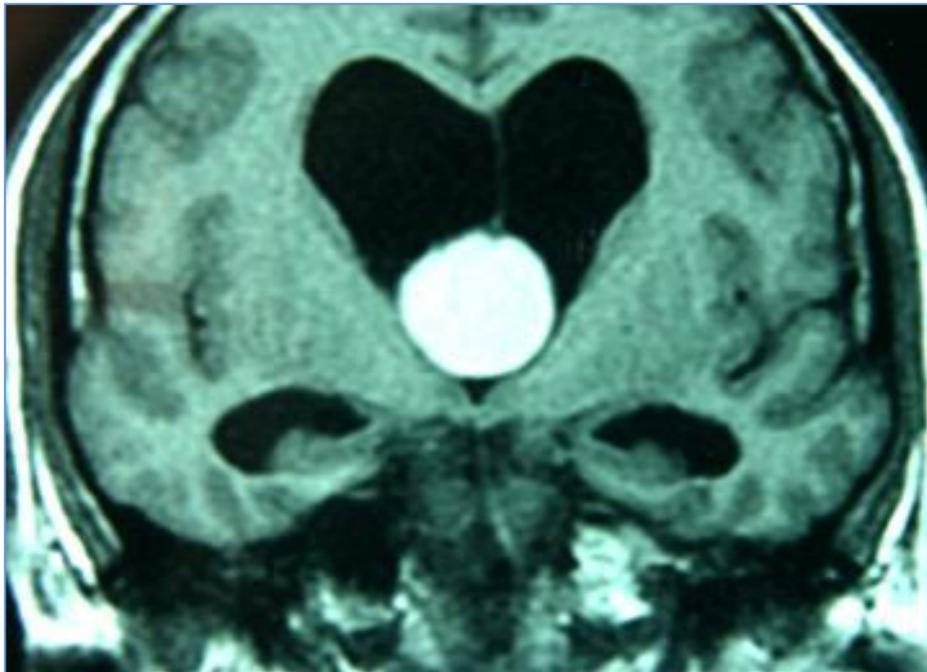


Figura 3.- Hidrocefalia. Imagen de resonancia magnética (corte coronal) en la que se observa una dilatación ventricular (hidrocefalia) causada por un tumor intraventricular que obstruye la circulación de líquido cefalorraquídeo.

La *siringomielia* es un cuadro patológico que consiste en la presencia de cavidades en el interior de la médula espinal, ocupadas por LCR. Clásicamente se ha incluido su estudio dentro de las malformaciones de la región occípito-cervical,

aunque tal vez deba ser clasificada con más propiedad entre las alteraciones de la circulación del LCR. En cualquier caso, suele asociarse a malformaciones óseas de esa región. La localización centromedular de las cavidades da origen a un cuadro clínico peculiar, llamado “síndrome siringomiélico”, en el que típicamente se produce una alteración de la sensibilidad termoalgésica y en la que los pacientes, por ejemplo, llegan a sufrir verdaderas quemaduras en las manos sin dolor alguno acompañante (4,5).

2.4. Patología vascular

Las hemorragias intracraneales representan una causa importante de morbilidad y mortalidad. El *hematoma intracerebral espontáneo* se define como la extravasación de sangre en el interior del parénquima encefálico. Tiene una incidencia anual de 15 casos por 100.000 habitantes y generalmente se interpreta como “hemorragia hipertensiva”, por considerarse que en su mayor parte se relacionan con la hipertensión arterial. El 20% de los accidentes cerebrovasculares agudos son debidos a estas lesiones hemorrágicas.

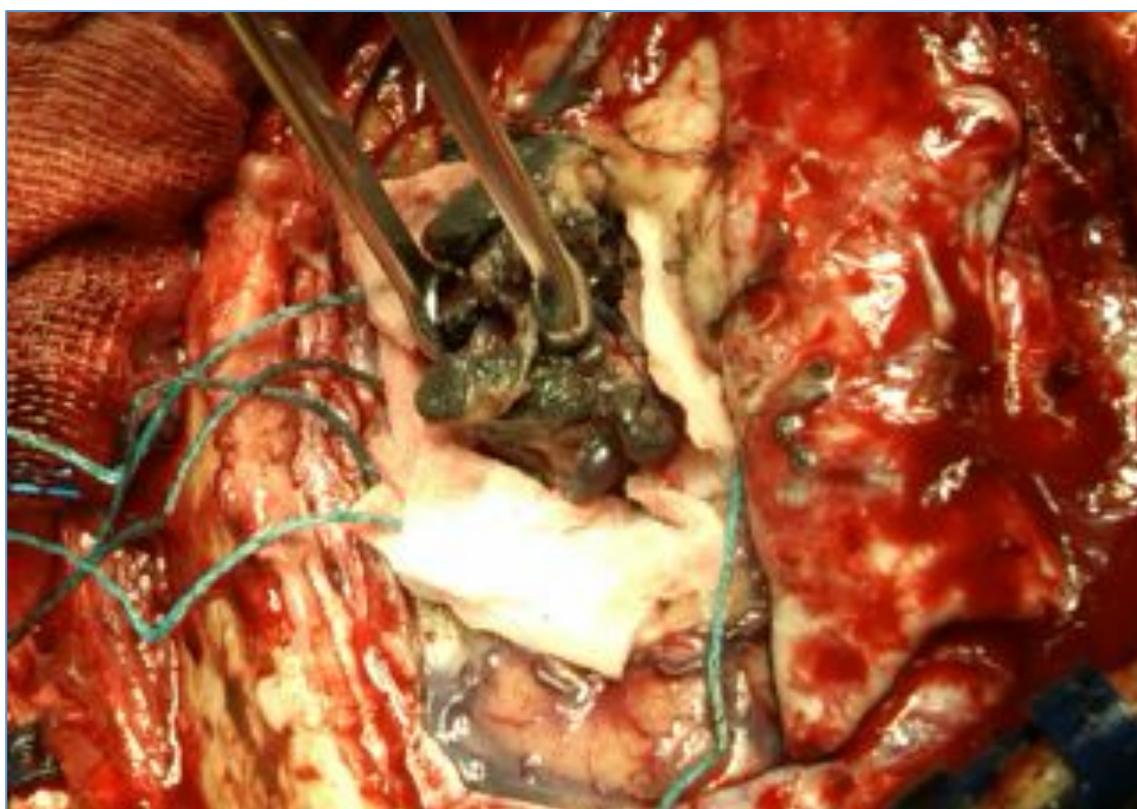


Figura 4.- Patología vascular cerebral. Resección quirúrgica de una malformación vascular cerebral.

Por otro lado, la rotura de un aneurisma (dilatación anómala de la pared arterial) cerebral en el espacio subaracnoideo da lugar a otra entidad típica, la *hemorragia subaracnoidea espontánea*. Es esta una entidad que reviste especial

gravedad, con una incidencia anual entre 10-12 casos por 100.000 habitantes. Otras causas de hemorragias intracraneales propiamente neuroquirúrgicas son las *malformaciones arteriovenosas* (comunicaciones anormales entre el territorio arterial y el venoso en las que falla el desarrollo del lecho capilar perpetuando así, las primitivas comunicaciones arteriovenosas fetales), que al romperse pueden causar hemorragias intracerebrales y/o subaracnoideas (Figura 4) (4,5).

3. PATOLOGÍAS RAQUIMEDULARES

3.1. Patología degenerativa

La degeneración artrósica de las vértebras, que recibe el nombre de *espondilosis*, se combina muchas veces con la lesión degenerativa de los discos intervertebrales y con el final propio de la misma, la *herniación discal*. La consecuencia directa de que este fenómeno sea connatural al envejecimiento del ser humano y de que este sea cada vez más longevo, es que la patología degenerativa espinal es sumamente frecuente y, de hecho, es la que con más frecuencia tratamos los neurocirujanos. Además de su alta incidencia y prevalencia, las implicaciones sociales, laborales y económicas que conlleva, obligan a cualquier médico en su práctica diaria a enfrentarse con ella antes o después. Puede decirse que, en sentido estricto, la hernia discal es la protrusión o salida de parte del disco intervertebral fuera de su lugar habitual. Se produce característicamente tanto en la columna lumbar como en la cervical.

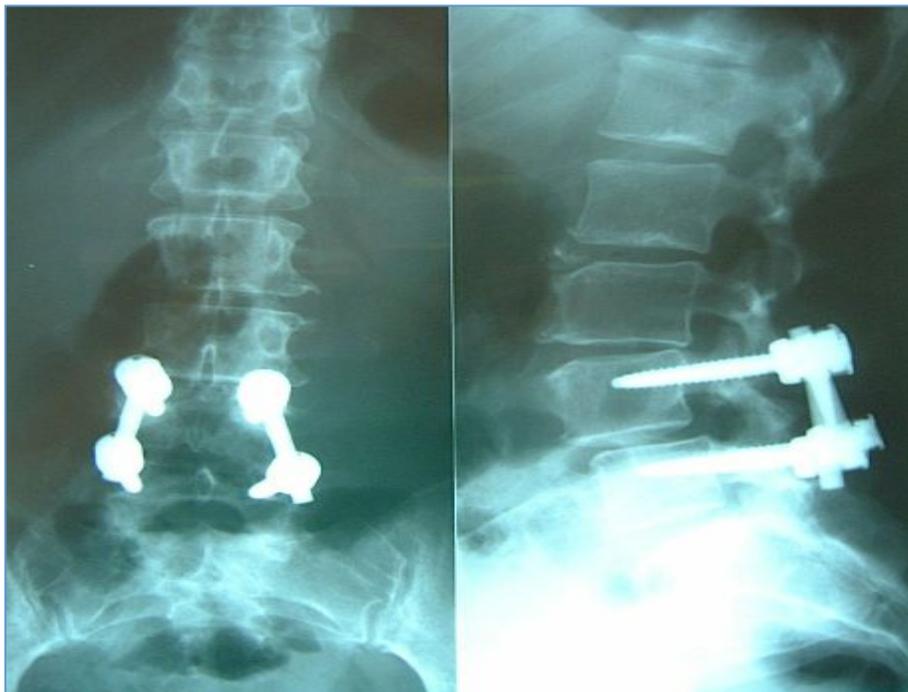


Figura 5.- Patología degenerativa espinal. Radiografía simple (proyección antero-posterior y lateral) de una paciente intervenida de estenosis degenerativa del canal lumbar mediante fijación con tornillos transpediculares.

En sujetos jóvenes, lo habitual es que existan hernias discales sin patología espondilótica acompañante. De esta forma, la hernia discal lumbar constituye la causa más frecuente de lumbociática entre los 20 y 60 años de edad. En cambio, en los pacientes de mayor edad, casi siempre las alteraciones del disco intervertebral van a asociarse a degeneraciones artrósicas vertebrales, causando un cuadro de compresión medular y/o radicular por estrechez o estenosis del canal cervical y/o del lumbar (Figura 5). Así, la espondilosis es la causa más frecuente de compresión medular y/o radicular, a nivel cervical, por encima de los 50 años de edad (4,5).

3.2. Traumatismos

La incidencia de los traumatismos raquimedulares es proporcional al grado de desarrollo industrial de un país. En España, esta incidencia se estima en 5 nuevos casos por 100.000 habitantes y año. Las principales causas son los accidentes de tráfico, los laborales, los deportivos y las caídas. Típicamente son lesiones propias de adultos jóvenes, entre 20 y 30 años de edad, con más frecuencia en los varones. La mortalidad global de esta entidad oscila entre el 5 y 20%, dependiendo del nivel lesionado, siendo mayor para los segmentos superiores (los cervicales). En lo que respecta a la morbilidad, es decir, a las complicaciones neurológicas de los traumatismos raquimedulares, se produce en alrededor del 20% de los casos y es más frecuente en las lesiones cérvico-dorsales que en las lumbares (Figura 6) (4,5).

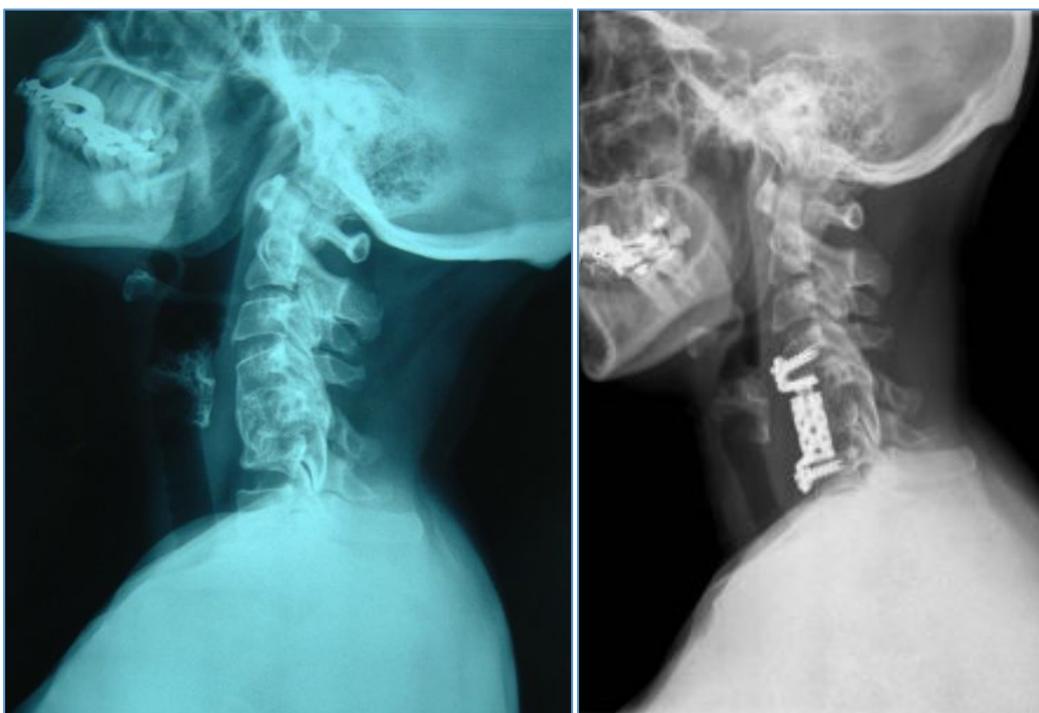


Figura 6. -Traumatismo raquimedular. **6a.**- Radiografía simple en proyección lateral en la que se observa una fractura de los cuerpos vertebrales C5 y C6. **6b.**- Imagen radiológica postquirúrgica en la que se han sustituido ambos cuerpos vertebrales por un cilindro expansivo de titanio.

3.3. Tumores

Dentro de los tumores raquimedulares, hemos de distinguir entre los que son propios del Sistema Nervioso (los que se originan en la médula espinal, en sus raíces o en sus cubiertas meníngeas) y los que son propios del raquis o del espacio epidural (por tanto, afectan secundariamente a las estructuras nerviosas). De forma global, los tumores raquimedulares más frecuentes son las *metástasis vertebrales*. Dentro del primer grupo, es decir, de los propios del Sistema Nervioso, distinguimos tumores intradurales-extramedulares (neurinomas y meningiomas) y tumores intradurales-intramedulares (ependimomas y astrocitomas). Se acepta que se presentan en una proporción aproximada de 1/10 respecto a sus homónimos intracraneales y que son anatomopatológicamente iguales a ellos (Figura 7) (4,5).

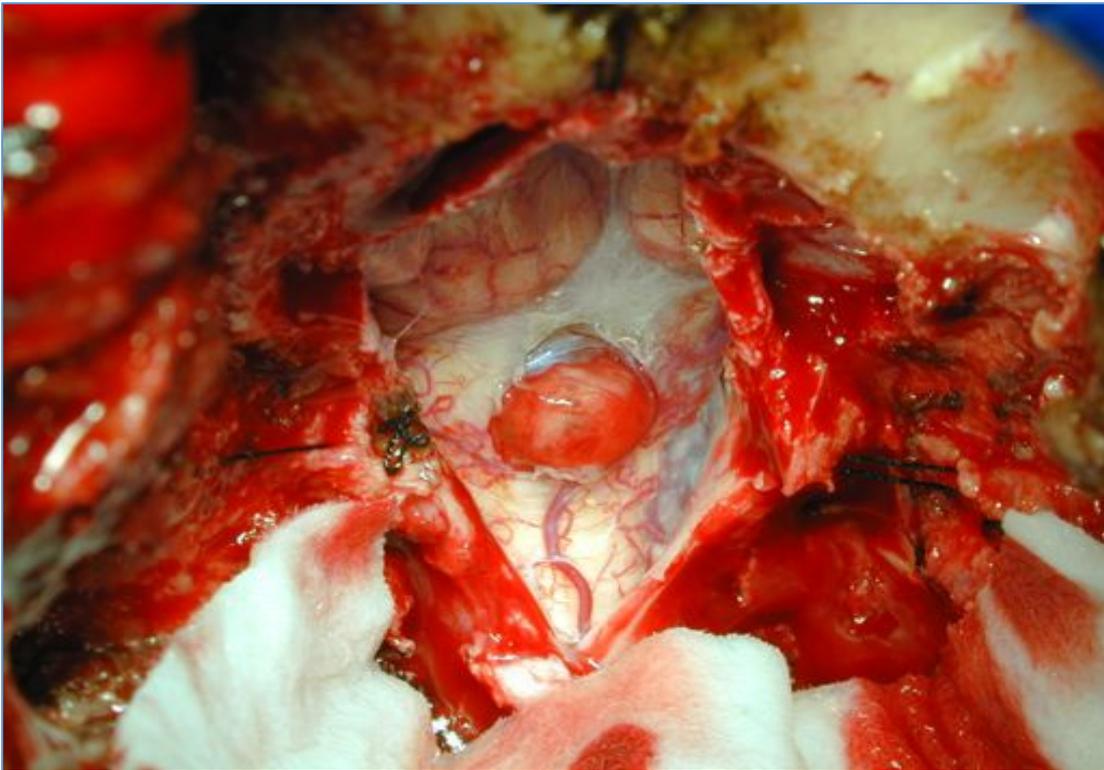


Figura 7.- Tumor bulbo-medular. Fotografía intraoperatoria de un paciente que está siendo operado de un tumor en la unión bulbo-medular.

4. MALFORMACIONES NEUROQUIRÚRGICAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El hecho de que el Sistema Nervioso sea una estructura altamente compleja condiciona que, en el curso de su desarrollo, puedan originarse múltiples *malformaciones craneoencefálicas*, ya sean causadas por factores endógenos (alteraciones genéticas) o bien por factores exógenos (infecciones, alteraciones nutricionales, agentes químicos, radiaciones, etc.). Se estima que en los países desarrollados, las malformaciones craneoencefálicas son responsables del 75% de

las muertes que tienen lugar durante el período fetal y del 40% de los fallecimientos durante el primer año de vida.



Figura 8.- Malformación raquimedular. **8a** (arriba).- Espina bífida abierta (mielomeningocele) en un recién nacido. **8b** (abajo).- Fotografía realizada inmediatamente tras la intervención quirúrgica, a las 24 horas del nacimiento.

Respecto a las malformaciones raquimedulares, se suelen agrupar dentro del concepto de “espina bífida”, debido a que, por lo general, la *malformación raquimedular* tiene como denominador común un defecto de cierre en el arco posterior vertebral. Cuando los cuadros malformativos tienen expresión a simple

vista, por la presencia de una herniación hacia el exterior de las estructuras intrarraquídeas, hablamos de “espina bífida abierta” o “espina bífida manifiesta” (Figura 8). Por el contrario, existen múltiples malformaciones en las que el defecto en el cierre del canal raquídeo sólo puede apreciarse mediante técnicas radiológicas, por lo que se la conoce como “espina bífida oculta” (4,5).

5. NEUROCIRUGÍA FUNCIONAL

Aunque el término “Neurocirugía funcional” puede resultar equívoco, suele aplicarse a cualquier intervención neuroquirúrgica cuya finalidad principal es modificar diferentes aspectos funcionales del Sistema Nervioso. Es, quizás, el ámbito de la Neurocirugía con más proyección de futuro a día de hoy. Generalmente, se enmarcan aquí las intervenciones neuroquirúrgicas sobre el dolor (neuralgia del trigémino, dolor tras cirugía lumbar, dolor por desaferentización, dolor oncológico,...), las que tratan trastornos del movimiento o del tono muscular (enfermedad de Parkinson, temblores, distonías,...), las destinadas a las crisis epilépticas (“cirugía de la epilepsia”) y las que tienen por objeto los cuadros psiquiátricos (“psicocirugía”) (Figura 9). Además, podemos incluir en este campo cualquier intervención neuroquirúrgica en la que se monitorizan diversas funciones neurológicas de los pacientes con el fin de preservarlas y que tienen su máximo exponente en la “cirugía con el paciente despierto” (4,5).

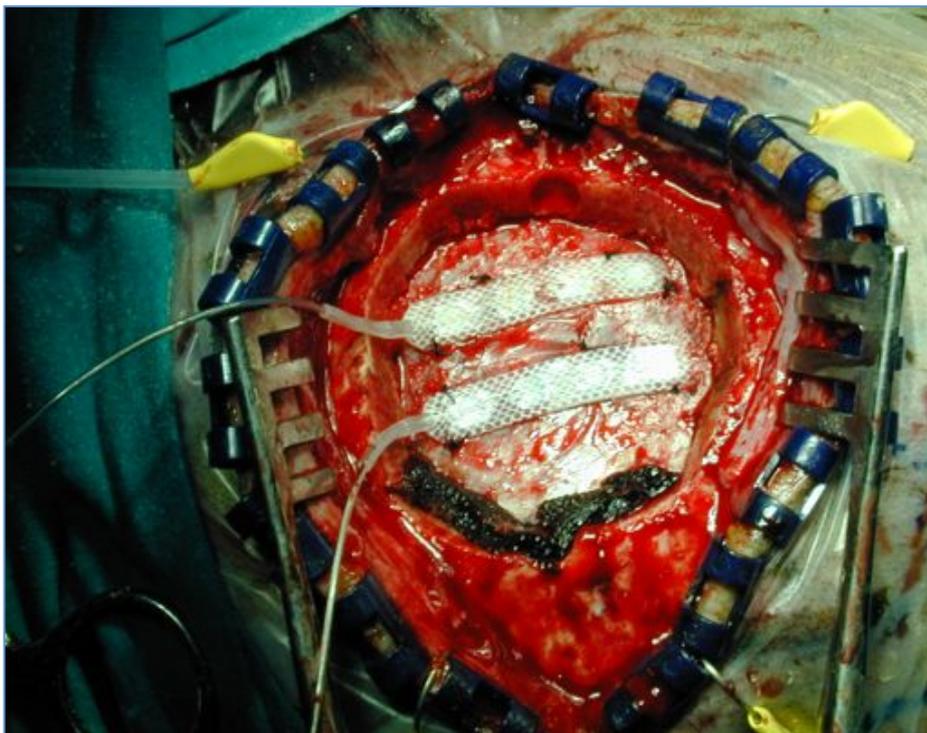


Figura 9.- Neurocirugía funcional. Imagen intraoperatoria de la colocación de electrodos epidurales craneales para el control del dolor.

6. PATOLOGÍA NEUROQUIRÚRGICA DEL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO Y AUTÓNOMO

La cirugía del *Sistema Nervioso Periférico* incluye la patología traumática del plexo braquial y lumbosacro, las neuropatías periféricas por atrapamiento, los traumatismos de los nervios periféricos y la patología tumoral de los mismos (Figura 10). En lo que respecta a la patología neuroquirúrgica del *Sistema Nervioso Autónomo*, prácticamente está relegada al tratamiento de la hiperhidrosis palmar (4,5).

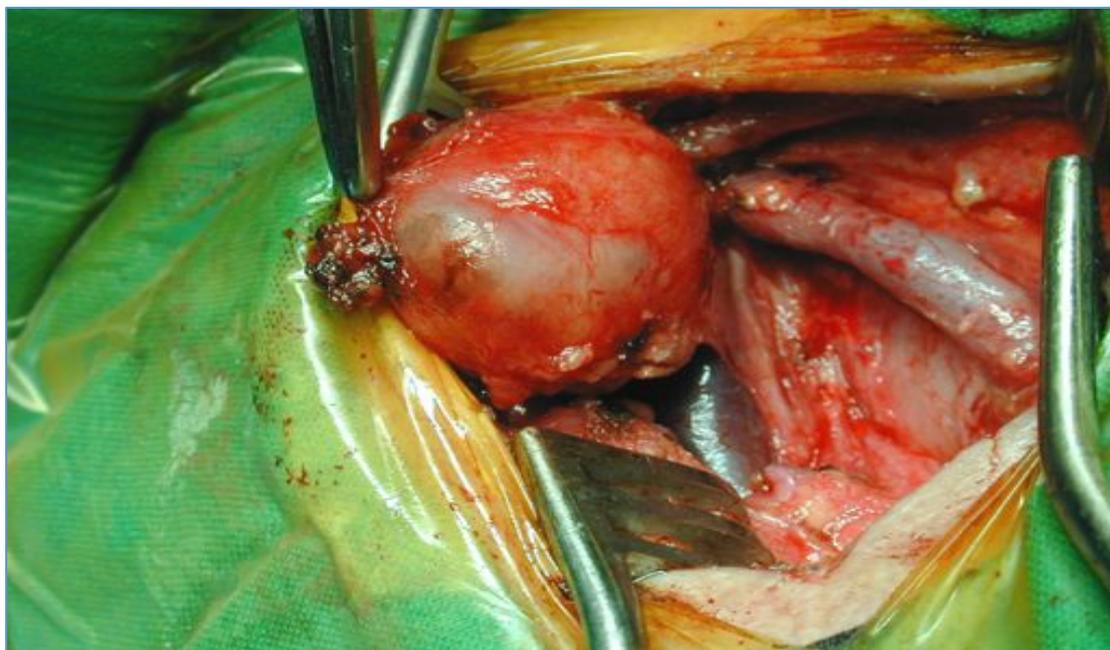


Figura 10.- Patología neuroquirúrgica del Sistema Nervioso Periférico y Autónomo. Resección quirúrgica de un neurinoma del nervio vago en la región cervical, entre la vena yugular y la arteria carótida.

7. REFERENCIAS

1. Rodríguez Boto, G. Memoria de Proyecto Docente e Investigador. Universidad Complutense de Madrid, 2007.
2. Laín Entralgo, P. Historia universal de la medicina. Editorial Salvat. Barcelona, 1975.
3. Obrador Alcalde, S. Comienzo y evolución de la moderna neurocirugía. En: "Tumores Intracraneales". Editorial Paz Montalvo, 1955.
4. Vaquero, J. Patología quirúrgica del sistema nervioso. Editorial universitaria Ramón Areces. Madrid, 2006.
5. Izquierdo Rojo, J.M., Martín Láz, R., Pinto Rafael, J.I. Neurocirugía básica para residentes. Sociedad Española de Neurocirugía, 2007.

¿Un paso adelante hacia la clonación humana con fines terapéuticos?

Juan-Ramón Lacadena

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.
e-mail: jrlgbucm@bio.ucm.es

Recibido el 4 de junio de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 2 (2013), pag. 241-252

RESUMEN

En el presente trabajo se analiza el estado actual de las investigaciones para la obtención de embriones humanos clónicos por transferencia nuclear de células somáticas y de las células troncales embrionarias y su posible utilización con fines terapéuticos. Se analizan algunos aspectos éticos y legales referentes a la obtención y utilización de los embriones humanos clónicos.

Palabras clave: Clonación en humanos; Transferencia nuclear; Embrión humano clónico; Embrión somático; Células troncales embrionarias clónicas; Aspectos bioéticos; Aspectos legales.

ABSTRACT

A step forward in human cloning for therapeutic purposes?

Present investigations carried out to produce human embryos by somatic cell nuclear transfer (SCNT embryos) and nuclear transfer human embryo stem cells (NT-ESC) and their use in regenerative medicine are analyzed. Ethical and legal aspects are discussed.

Keywords: Human cloning; Somatic cell nuclear transfer; Clone human embryo; SCNT embryo; Somatic embryo; Human embryonic; Stem cells derived by somatic cell nuclear transfer; NT-ESC; Bioethical aspects; Legal aspects.

1. ANTECEDENTES

La utilización de 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 (1). En este contexto, no cabe duda que el uso de las células troncales puede resultar fundamental. Por célula troncal se entiende cualquier célula que tiene la doble capacidad de reproducirse de forma ilimitada y, si recibe las órdenes adecuadas, dar lugar en un cierto momento 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. Entre los diversos tipos se encuentran las células troncales embrionarias (células ES, por *embryo stem*) que son pluripotentes, las células troncales adultas (células AS, por *adult stem*) que son multipotentes y las células troncales pluripotentes inducidas (células iPS, por *induced pluripotent stem*) que, siendo pluripotentes, derivan de células somáticas que adquieren la pluripotencia sin pasar por fase embrionaria. Estas últimas fueron obtenidas por primera vez por Shinya Yamanaka en 2006 en ratón y en 2007 en humanos, lo cual le valió el Premio Nobel en Fisiología o Medicina en 2012 (2).

La aplicación clínica de las células troncales pueden ser por:

1. Transferencia celular heteróloga:

- a. Células troncales embrionarias (células ES) de embriones obtenidos por fecundación in vitro (FIV) ya sean sobrantes de técnicas de reproducción asistida o producidos ex profeso.
- b. Células troncales adultas (células AS) de donante (trasplante, diagnóstico genético preimplantacional histocompatible: selección de embriones con fines terapéuticos).

2. Transferencia celular autóloga:

- a. Células AS del paciente.
- b. Células iPS del paciente
- c. Clonación terapéutica (embrión somático).

2. CÉLULAS TRONCALES EMBRIONARIAS CLÓNICAS OBTENIDAS POR TRANSFERENCIA NUCLEAR EN PRIMATES NO HUMANOS

En 2007, Mitalipov y colaboradores (3), del Oregon National Primate Research Center, publicaron la obtención dos líneas celulares troncales embrionarias de un primate no humano (un macho adulto de 9 años de macaco rhesus, *Macaca mulata*) mediante la técnica de transferencia nuclear de células somáticas. En principio lograron la formación de 35 blastocistos clónicos a partir de 213 transferencias nucleares (un 16% de éxito), obteniendo finalmente dos

líneas celulares troncales embrionarias a partir de 304 ovocitos procedentes de 14 hembras. Las investigaciones posteriores del grupo de Mitalipov en el macaco han servido para intentar poner a punto las técnicas aplicables en la especie humana, tal como veremos a continuación.

3. EL ESTADO DE LA CUESTIÓN EN LA CLONACIÓN HUMANA POR TRANSFERENCIA NUCLEAR

La clonación humana mediante la técnica de transferencia del núcleo de una célula somática al citoplasma de un ovocito previamente desprovisto de sus cromosomas (*citoplasto*) puede hacerse con fines reproductivos –es decir, intentando el nacimiento de un niño o niña clónicos (*clonación reproductiva*)– o con fines no reproductivos de investigación o fines terapéuticos (*clonación terapéutica*).

La técnica de transferencia nuclear (NT, por *nuclear transfer*) permite obtener embriones humanos clónicos (embriones SCNT, por *somatic cell nuclear transfer*) que se desarrollan hasta el estadio de blastocisto y de cuya masa celular interna (MCI) se pueden aislar células troncales embrionarias pluripotentes (células NT-ESC, por *nuclear transfer-embryo stem cell*).

Aunque se habla mucho de la clonación humana y la sociedad lo percibe como si fuera ya una realidad, lo cierto es que hasta la fecha han sido muy escasos los logros científicos, tal como se indica a continuación:

- Cibelli y Lanza (2001) (4): 19 ovocitos, 3 embriones (evolucionaron hasta el estadio de 6 células).
- Stojkovic y col. (2005) (5): 36 ovocitos, 1 blastocisto SCNT procedente de una célula donadora indiferenciada.
- Zavos e Illmensee (2006) (6): 3 ovocitos, 1 embrión somático de 4 células transferido al útero. No implantación. Intento de clonación reproductiva.
- French y col. (2008) (7): 29 ovocitos de 3 mujeres, núcleos de fibroblastos de 2 donantes varones adultos, 21 embriones SCNT, 5 blastocistos SCNT (40-72 células).
- Egli y col. (2011) (8): los embriones SCNT no progresan más allá de ocho células.
- Noggle y col. (2011) (9): los embriones SCNT no pasan de ocho células
- Fan y col. (2011) (10): alcanzan la fase de blastocistos SCNT, pero no se obtienen células troncales.

Como puede verse, la única investigación realmente exitosa en el contexto de una posible obtención de líneas celulares troncales de origen clónico en un futuro más o menos próximo es la de French y colaboradores del año 2008 puesto que en el trabajo del grupo de Cibelli y Lanza los tres embriones clónicos obtenidos

no pasaron del estadio de seis células, el blastocisto único de Stojkovic y colaboradores procedía de una célula indiferenciada (técnicamente, por tanto, se trataría de una *paraclonación*). Lógicamente, no se incluyen en esta relación los trabajos del grupo surcoreano de Hwang que resultaron ser fraudulentos.

El éxito logrado por Mitalipov y colaboradores en 2007 en un primate no humano como el macaco rhesus hizo albergar esperanzas sobre la posibilidad de tener éxito también en la especie humana. Y así fue, en efecto, porque el siguiente paso en una acelerada carrera científica se dio poco después, el 17 de enero de 2008, cuando el grupo liderado por el Dr. Andrew J. French (7), de la empresa privada norteamericana Stemagen Corporation, La Jolla, California, hizo público en la versión *online* de la revista *Stem Cells* que habían obtenido mediante la técnica de transferencia nuclear 5 blastocistos humanos clónicos que llegaron a alcanzar una fase de desarrollo de entre 40 y 72 células. Ellos utilizaron 29 ovocitos procedentes de 3 mujeres jóvenes (20-24 años) a los que se transfirieron los núcleos de fibroblastos de dos donantes varones adultos, obteniendo 21 embriones SCNT de los que 5 alcanzaron la fase de blastocisto. De los 5 posibles blastocistos SCNT, sólo en uno de ellos se demostró su verdadera condición clónica por análisis tanto del ADN nuclear como del ADN mitocondrial (ADNmt) mientras que en otros dos solamente se confirmó el ADN nuclear. En ningún caso se pudieron obtener las líneas celulares troncales porque los blastocistos fueron destruidos para poder realizar los análisis del ADN.

Por todo ello, ha impactado en la comunidad científica y en la sociedad la noticia de que el 15 de mayo de 2013, la revista *Cell* publicó *online* el trabajo de Mitalipov y colaboradores (11) en el que demostraban que, por primera vez en la historia científica, se había obtenido mediante la técnica de transferencia nuclear (NT) embriones humanos clónicos (SCNT) que se desarrollaban hasta el estadio de blastocisto y de los que se aislaron células troncales embrionarias pluripotentes (NT-ESC). Esta investigación supone un paso adelante hacia la clonación humana con fines terapéuticos.

La investigación de Mitalipov y colaboradores, aunque enormemente sofisticada y compleja, se puede resumir así:

1. Optimización de la metodología utilizada en el macaco rhesus:

- a. La sensibilidad del ovocito humano en metafase II (ovocito MII) a la activación prematura inducida por la eliminación y reintroducción del huso meiótico (12) y la utilización de la electrofusión (13) les llevó a introducir ciertos cambios técnicos como fue la utilización de la envoltura del virus hemaglutinante del Japón (HVJ-E) previamente inactivado para fusionar las células somáticas donadoras con los ovocitos MII mientras se mantienen los ovocitos enucleados (citoplastos) en meiosis. Aunque la tasa de fusión era del 100%, sin

embargo los embriones SCNT generados por la fusión HVJ-E no sobrepasaban la fase de mórula a pesar de haberse aplicado la técnica estándar de activación con ionomicina/DMAP (activación I/DMAP).

- b. Para mejorar la técnica se expusieron a un electropulso (electroporación) embriones SCNT fusionados con HVJ-E antes de la activación I/DMAP, obteniéndose un 10% de embriones SCNT que alcanzaban la fase de blastocisto.
- c. Utilización de inhibidores de la histona desacetilasa, como la tricostatina A (TSA), a bajas concentraciones (10 nM) y corto tiempo de exposición (12 h).

2. Optimización de la metodología para producir embriones humanos SCNT y líneas NT-ESC:

- a. Utilizan 63 ovocitos humanos obtenidos por estimulación ovárica y aspiración folicular transvaginal.
- b. Obtención de fibroblastos dermales de fetos femeninos sincronizados en fase G0/G1 como donadores de núcleos.
- c. Eliminación del huso del ovocito MII y fusión con la célula somática donadora con la técnica HVJ-E dentro de los 60 minutos desde la obtención del ovocito.
- d. El 95% (60 de 63) de los ovocitos sobreviven a la eliminación del huso MII.
- e. La introducción de los núcleos procedentes de los fibroblastos donadores fusionados con la técnica HVJ-E se realizó al 100%.
- f. Los ovocitos fueron activados con electroporación/DMAP (4 h) y expuestos a TSA (10nM durante 12 horas).
- g. De 63 ovocitos iniciales, sobrevivieron 60 (95,2 %) de los que 52 (86,7 %) comienzan a dividirse, llegando 32 (61,5 %) de ellos a la fase de 8 células, 7 (13,5 %) hasta la fase de mórula y 6 (11,5 %) hasta blastocisto SCNT, de los que solamente uno sobrevivió a la fase de cultivo sobre capa nutritiva pero que no dio lugar a ninguna línea celular NT-ESC.

3. Modificación definitiva de la técnica:

- a. Dado que la eliminación del huso en ovocitos MII produce una activación prematura, se asume que factores específicos de la meiosis se retienen durante la eliminación del huso pero decaen en su actividad debido a la activación espontánea. Por tanto, se decide utilizar tratamientos no invasivos para mantener la parada meiótica durante la manipulación, decidiéndose por la cafeína (inhibidora de proteinfosfatasa) que, en 2007, Mitalipov y colaboradores habían demostrado ser eficaz en ovocitos de macaco al impedir la activación

prematura del citoplasto, mejorando el desarrollo de embriones SCNT. Así, los ovocitos humanos se mantuvieron en presencia de cafeína 1,25 nM durante la eliminación del huso del ovocito MII y la fusión celular somática.

- b. A partir de 8 ovocitos de una donadora (A) se obtuvieron 5 blastocistos SCNT de los que derivaron 4 líneas NT-ESC. Las células donadoras fusionadas eran fibroblastos dermales de fetos femeninos sincronizados en fase G0/G1.
- c. Para comprobar la reproducibilidad de la técnica se utilizaron 15 y 5 ovocitos de otras dos mujeres donantes (B) y (C), respectivamente, y como células somáticas a fusionar en ambos casos fibroblastos epiteliales de un paciente con síndrome de Leigh (enfermedad mitocondrial). Se obtuvieron 4 y 3 blastocistos de la procedencias (B) y (C), respectivamente, y una línea NT-ESC en cada caso.
- d. Con el fin de evaluar la posibilidad de utilizar en la terapia regenerativa del futuro las células NT-ESC obtenidas con las técnicas mencionadas, se comprobó la pluripotencia de tales líneas celulares examinando la expresión de marcadores genéricos de células troncales mediante técnicas inmunocitoquímicas y la expresión de los factores de transcripción OCT-4, NANOG, SOX2, SSEA-4, TRA-1-60 y TRA-1-81. Asimismo se demostró que eran capaces de originar tumores con representación de las tres capas germinales embrionarias, así como formar de manera espontánea en cultivos en suspensión cardiomiocitos que tenían pulsos de contracción.
- e. Finalmente, los autores recomiendan que los ovocitos que se utilicen en experimentos para obtención de líneas NT-ESC deben ser de buena calidad, por lo que recomiendan que no se deben utilizar las técnicas convencionales de estimulación ovárica de los programas de FIV, sino que deben establecerse técnicas específicas con dosis adecuadas de gonadotropinas y regímenes de supresión de pituitaria. Asimismo recomiendan hacer determinados estudios genéticos de las posibles donantes de ovocitos.

4. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Los intentos de abrir las puertas a la clonación terapéutica humana puede que resulten innecesarios si llega a hacerse una realidad clínica la reprogramación de células somáticas adultas utilizando las técnicas de Yamanaka de obtención de las células iPS, evitando con ello la obtención y destrucción de embriones humanos. No obstante, Mitalipov y colaboradores argumentan que, dado que los embriones SCNT apenas si tienen presente en su citoplasma ADNmt procedente de la célula

somática donadora, la utilización de los embriones SCNT puede ser ventajosa frente a la de las células iPS para el caso de enfermedades mitocondriales.

En este contexto, cabe señalar que investigadores de renombre universal en el campo de la clonación como el Dr. Ian Wilmut, de la Universidad de Edimburgo y padre científico de la oveja Dolly, anunciaron que abandonaban la investigación en clonación terapéutica humana para pasarse a la utilización de la técnica de reprogramación celular mediante células iPS de Yamanaka. También José B. Cibelli, uno de los pioneros de la clonación humana (14), se ha manifestado a favor de la nueva técnica de reprogramación mientras que, por ejemplo en España, otros científicos siguen aferrándose a la investigación con células troncales embrionarias. 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.

4.1. El embrión clónico o embrión somático ¿es un embrión humano?

La entidad biológica obtenida por transferencia al citoplasma de un ovocito previamente enucleado del núcleo procedente de una célula somática puede considerarse un embrión humano (*embrión clónico* o *embrión somático*), en cuanto que podría ser viable, siendo por tanto equiparable a un embrión obtenido por fecundación gamética como se ha demostrado a partir de la oveja Dolly (1997) y cerca de una veintena más de especies de mamíferos: ratón (1998), vaca (1998, 2000), mono rhesus (1997), cabra (1999), cerdo (2000, 2001, 2003), gato (2002, 2007), conejo (2002), carnero bateng (2003), mulo (2003), caballo (2003), rata (2003), ciervo (2003), hurón (2004), perro (2005, 2006, 2009), lobo (2007), camello (2009), toro de lidia (2010), etc. sin contar los casos en los que el animal clónico murió al poco tiempo de nacer. En todos los casos, el organismo biológico obtenido tras la transferencia nuclear tiene un proceso de desarrollo similar al de un embrión gamético puesto que origina un individuo propio de la especie considerada. Por ello, cabe pensar que también en la especie humana sucedería lo mismo. De momento sólo se tiene noticia de un intento científico fallido de clonación humana con fines reproductivos llevado a cabo en 2006 por Zavos e Illmensee (15). Ellos manipularon 3 ovocitos, obteniendo 1 embrión somático de 4 células que fue transferido al útero de una mujer, pero no se implantó. Los autores anunciaron que, no obstante, seguirían intentándolo.

Desde el punto de vista ético y jurídico es importante recordar la Sentencia del Tribunal de Justicia de la Unión Europea sobre las Patentes de Células Troncales Embrionarias (16). En efecto, el 18 de octubre de 2011, oídas las conclusiones del Abogado General, dictó sentencia el Tribunal de Justicia (Gran Sala) en los siguientes términos:

El Tribunal de Justicia (Gran Sala), tras analizar en el marco jurídico los Acuerdos que vinculan a la Unión Europea o a los Estados miembros así como la Normativa de la Unión y el Derecho nacional [alemán], pasa a considerar el litigio principal y las cuestiones prejudiciales y, finalmente a modo de conclusión, declara:

1. El artículo 6, apartado 2, letra c), de la Directiva 98/44/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de julio de 1988, relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas, debe interpretarse en el sentido de que:
 - a. *Constituye un “embrión humano” todo óvulo humano a partir del estadio de la fecundación, todo óvulo humano no fecundado en el que se haya implantado el núcleo de una célula humana madura (la cursiva es mía) y todo óvulo humano no fecundado estimulado para dividirse y desarrollarse mediante partenogénesis.*
 - b. *Corresponde al juez nacional determinar, a la luz de los avances de la ciencia, si una célula madre obtenida a partir de un embrión humano en el estadio de blastocisto constituye un “embrión humano” en el sentido del artículo 6, apartado 2, letra c), de la Directiva 98/44.*
2. *La exclusión de la patentabilidad en relación con la utilización de embriones humanos con fines industriales o comerciales (la cursiva es mía) contemplada en el artículo 6, apartado 2, letra c), de la Directiva 98/44 también se refiere a la utilización con fines de investigación científica, pudiendo únicamente ser objeto de patente la utilización con fines terapéuticos o de diagnóstico que se aplica al embrión y que le es útil.*
3. El artículo 6, apartado 2, letra c), de la Directiva 98/44 *excluye la patentabilidad de una invención cuando la información técnica objeto de la solicitud de patente requiera la destrucción previa de embriones humanos (la cursiva es mía) o su utilización como materia prima, sea cual fuere el estadio en el que éstos se utilicen y aunque la descripción técnica no mencione la utilización de embriones humanos.*

Estoy de acuerdo con el Informe del Abogado General del Tribunal de Justicia de la Unión Europea en que se basa la sentencia mencionada al considerar al embrión somático humano equivalente, en cuanto a su noción y, por tanto, dignidad, al embrión obtenido por fecundación de un óvulo y un espermatozoide.

Esto contradice a aquellos autores que utilizan términos como “nuclóvulo”, “ovonúcleo”, “clonate”, “ovocito activado”, etc. que evitan el sustantivo “embrión” para obviar los problemas éticos. En España, la Ley 14/2007 sobre investigación biomédica dice en el artículo 33.2 que “se permite la utilización de cualquier técnica de obtención de *células troncales* humanas con fines terapéuticos o de investigación, *que no comporte la creación de un preembrión o de un embrión*”

exclusivamente con este fin, en los términos definidos en esta ley, incluida la *activación de ovocitos mediante transferencia nuclear* [la cursiva es mía], dando por hecho que la “activación de ovocitos mediante transferencia nuclear” no comporta la “creación de un preembrión o un embrión”. Es decir, para no utilizar la denominación biológica correcta que tendría que incluir el sustantivo “embrión” (embrión clónico o embrión somático) y, por tanto, iría en contra de la propia ley que en el apartado 1 del mismo artículo 33 dice que “se prohíbe la *constitución de preembriones y embriones* humanos exclusivamente con fines de experimentación.” Me consta que el texto de la ley estuvo retenido mucho tiempo por el Gobierno del PSOE antes de ser enviado a las Cortes para su tramitación por la incongruencia jurídica que hubiera supuesto prohibir, por un lado, la constitución de embriones con fines de experimentación y, por otro lado, autorizar la obtención de embriones clónicos con fines terapéuticos en el mismo texto legal. La solución fue, y el Congreso de los Diputados lo aprobó, utilizar la expresión “activación de ovocitos” en lugar de “obtención de embriones clónicos”; es decir, el “ovocito activado” sustituye al “embrión”, lo cual es inaceptable desde el punto de vista biológico. Aquí se cumple aquello de que se cambian las palabras para justificar actitudes o que para justificar actitudes se cambian las palabras.

Me parece importante señalar que al producirse la noticia del trabajo de Mitalipov y colabores, los científicos (por ejemplo, el Dr. Carlos Simón del Centro de Investigación Príncipe Felipe de Valencia, a la vanguardia de estas técnicas en España) han utilizado sin ambages el término “embrión somático” en sus declaraciones en los medios de comunicación. Incluso, una Ley de la Junta de Andalucía, anterior a la Ley 14/2007 sobre investigación biomédica, utilizaba también el término “embrión somático”. Abundando en este sentido, todas las publicaciones científicas utilizan el sustantivo “embrión”: así, en inglés se utiliza el acrónimo “SCNT embryo”, que puede traducirse por “embrión obtenido por transferencia nuclear de célula somática”. En cualquier caso, siempre se le considera como un embrión.

El Dr. Mitalipov ha declarado que sus investigaciones están encaminadas únicamente a la posible utilización de las células troncales del embrión somático (NT-ESC) con fines terapéuticos, nunca para obtener embriones clónicos humanos con fines reproductivos. El problema está en que sus mejoras técnicas puedan ser utilizadas por otros grupos de investigación cuyos planteamientos éticos no cuestionen la obtención de seres humanos clónicos. Tal podría ser el caso de las investigaciones de Zavos e Illmensee quienes ya en 2006 realizaron un experimento de *clonación reproductiva*, puesto que pretendían obtener el nacimiento de un ser humano clónico a partir de un embrión SCNT de 4 células que fue transferido al útero de la mujer aunque no llegó a implantarse. El procedimiento experimental fue autorizado por el Comité de Revisión Institucional

de la compañía Reprogen Ltd. (Limassol, Chipre). Ambos investigadores, en contra de la opinión casi unánime de la comunidad científica y de la sociedad, están decididos, según sus manifestaciones, a llevar a término la clonación humana reproductiva. Y a lo mejor, o a lo peor, puede haber otros científicos que quieran intentar lo mismo utilizando la técnica de Mitalipov y colaboradores.

En Bioética se utiliza en ocasiones el principio del “plano resbaladizo”; es decir, que la autorización o realización de un cierto tipo de técnicas éticamente dudosas puede conducir de forma imparable hacia nuevas situaciones indeseables: es como quien pone el pie en un plano inclinado resbaladizo y se desliza de forma imparable hasta el final del mismo. También suele decirse que, cuando se abre una puerta, ya no se puede volver a cerrar.

En un lugar anterior se indicaban las posibles aplicaciones clínicas de las células troncales en la *transferencia celular autóloga* para evitar el rechazo inmunológico: las células troncales adultas (células AS), las células troncales pluripotentes inducidas (células iPS) y las células troncales procedentes del embrión somático (SCNT) del propio paciente. Desde el punto de vista ético no hay duda que las dos primeras técnicas serían aceptables para todos (la comunidad científica y la sociedad) mientras que la tercera es éticamente rechazada por muchos por el significado biológico del *embrión somático* (embrión SCNT) obtenido por transferencia nuclear que es equiparable a un *embrión gamético* obtenido por un proceso normal de fecundación, tal como se ha razonado anteriormente. En ese “proceso imparable” de la ciencia podemos decir que no hay nada imposible: todo es cuestión de decisión, de recursos económicos y de ética (o de falta de ética). ¿Por qué no se toma la decisión de una vez por todas de buscar las soluciones que no plantean problemas éticos? ¿por qué no se apuesta decididamente por la utilización de las células troncales adultas (células AS), por la reprogramación celular de células somáticas adultas (células troncales pluripotentes inducidas, células iPS) o por la reprogramación directa? Señalaba anteriormente, al hacer referencia a la reprogramación celular y la obtención de células troncales pluripotentes inducidas (células iPS) a partir de células somáticas adultas, que muchos las vemos como la solución bioética para la terapia celular de la Medicina Regenerativa

La comunidad científica y la sociedad mundial no han llegado a un acuerdo sobre la valoración ética de la clonación humana. Tras varios años de discusiones, la Organización de las Naciones Unidas aprobó en 2005 una *Declaración no vinculante sobre la clonación humana* por la que “se urge a los Estados Miembros para que adopten todas las medidas necesarias para prohibir cualquier forma de clonación humana *en tanto en cuanto* (la *cursiva* es mía) fueran incompatibles con la dignidad humana y la protección de la vida humana”. A mi juicio, esta

declaración es equiparable a un “parto de los montes” porque ese “*en tanto en cuanto*” que incluye el texto de la declaración equivale a echar agua en la leche.

En este contexto me parece oportuno recordar las reflexiones que he hecho en otra ocasiones en relación con alguna postura crítica respecto al avance “ciego” de la ciencia (algunos lo denominan “fundamentalismo científico”), siendo muy paradigmático el caso de Jacques Testart, biólogo francés y padre científico de la primera niña probeta nacida en Francia en 1982. Testart mostró su postura crítica ante los derroteros por los que han derivado las técnicas de reproducción humana asistida, manifestando su opinión contraria “a cualquier forma de diagnóstico preimplantatorio, esté o no justificada” (17). Su “*j’arrête*” –“me detengo, me planto”– causó un gran impacto en la bioética y en la comunidad científica.

En la investigación biomédica actual nos encontramos ante el *imperativo tecnológico* de que “todo lo que se pueda hacer, se hará” o, más aún, “todo lo que se pueda hacer, hay que hacerlo”, con los problemas bioéticos que estas actitudes conllevan.

4. REFERENCIAS

1. Una amplia revisión del tema fue tratada por el autor en Lacadena, J.R. 2011. Genética y Sociedad. Discurso leído en la Solemne Sesión Inaugural del Curso celebrada el 13 de enero de 2011, Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid, pp. 119-147. Parte del contenido del presente trabajo está necesariamente basado en dicha publicación.
2. Lacadena, J.R. 2013. El Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012: Rebobinando la película genética del desarrollo. An. R. Acad. Nac. Farm., vol.79 (nº 1):151-171
3. Byrne, J.A.; Pedersen, D.A.; Clepper, L.L.; Nelson, M.; Sanger, W.G.; Gokhale, S.; Wolf, D.P.; Mitalipov, S.M. 2007. Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer. Nature, 450:497-502.
4. Cibelli, J.B.; Kiessling, A.A.; Cunniff, K.; Richards, C.; Lanza, R.P.; West, M.D. 2001. Somatic cell nuclear transfer in humans: Pronuclear and early embryonic development. E-biomed: The Journal of Regenerative Medicine, 2:25-31. Cibelli, J.B.; Lanza, R.P.; West, M.D.; Ezzell, C. 2002. The first human cloned embryo. Scient. Ame., 286:42-49.
5. Stojkovic, M.; Stojkovic, P.; Leary, C.; Hall, V.J.; Armstrong, L.; Nesbitt, M.; Herbert, M.; Lako, M.; Murdoch, A. 2005. Derivation of a human blastocyst after heterologous nuclear transfer to donated oocytes. Reproductive BioMedicine Online, 11:226-23.
6. Zavos, P.M.; Illmensee, K. 2006. Possible therapy of male infertility by reproductive cloning: one cloned human 4-cell embryo. Archives of Andrology, 52:243-254.
7. French, A.; Adams, C.A.; Anderson, L.S.; Kitchen, J.R.; Hughes, M.R.; Wood, S.H. 2008. Development of human cloned blastocysts following somatic cell transfer (SCNT) with adult fibroblasts. Stem Cells on line DOI: 10.1634/stemcells.2007-0252.
8. Egli, D.; Chen, A.E.; Saphier, G.; et al. 2011. Reprogramming within hours following nuclear transfer into mouse but not human zygotes. Nat. Commun., 2:488.
9. Noggle, S.; Fung, H.L.; Gore, A.; et al. 2011. Human oocytes reprogram somatic cells to a pluripotent state. Nature, 478:70-75.
10. Fan, Y.; Jiang, Y.; Chen, X.; Ou, Z.; Yin, Y.; et al. 2011. Derivation of cloned human blastocysts by histone deacetylase inhibitor treatment after somatic cell nuclear transfer with b-thalassemia fibroblasts. Stem Cells Dev., 20:1951-1959.

11. Tachibana, M.; Amato, P.; Sparman, M.; Marti Gutiérrez, M.; Tippner-Hedges, R.; Ma, H.; Kang, E.; Fulati, A.; Lee, H-S.; Sritanaudomchai, H.; Masterson, K.; Larson, J.; Eaton, D.; Sadler-Fredd, K.; Battaglia, D.; Lee, D.; Wu, D.; Jansen, J.; Patton, P.; Gokhale, S.; Stouffer, R.L.; Woll, D.; Mitalipov, S. 2013. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell*, 153:1-11 (publicado online el 15 de mayo 2013: 10.1016/j.cell.2013.05.006).
12. Tachibana, M.; Amato, P.; Sparman, M.; et al. 2013. Towards germline gene therapy of inherited mitochondrial diseases. *Nature*, 493:627-631.
13. Tachibana, M.; Sparman, M.; Sritanaudomchai, H.; et al. 2009. Mitochondrial gene replacement in primate offspring and embryonic stem cells. *Nature*, 461:367-372.
14. Cibelli, J.B.; Kiessling, A.A.; Cunniff, K.; Richards, C.; Lanza, R.P.; West, M.D. 2001. Somatic cell nuclear transfer in humans: Pronuclear and early embryonic development. *E-biomed: The Journal of Regenerative Medicine*, 2:25-31.
15. Zavos, P.M.; Illmensee, K. 2006. Possible therapy of male infertility by reproductive cloning: one cloned human 4-cell embryo. *Archives of Andrology*, 52:243-25.
16. Lacadena, J.R. 2011. Sentencia del Tribunal de Justicia de la Unión Europea sobre las Patentes de Células Troncales Embrionarias. A propósito de un informe jurídico sobre patentes: El concepto y dignidad del embrión humano. *Rev. Der. Gen. H.*, 35: 145-180.
17. Testart, J. 1986. *L'oeuf transparent*, Flammarion Coll. Champs (traducido al español en 1988).

Long-life supplementation with atenolol converts the heart and skeletal muscle unsaturation of mitochondrial membranes of mice into those of ten fold longer-lived mammals. Effects on mean and maximum longevity

Alexia Gómez¹, A. Naudi², R. Pamplona² and Gustavo Barja^{1*}

¹Department of Animal Physiology II, Faculty of Biological Sciences, Complutense University, c/Antonio Novais n° 2, Madrid 28040, Spain. ²Department of Experimental Medicine, University of Lleida-IRBLleida, E-25008 Lleida, Spain.
e-mail: gbarja@bio.ucm.es

Premio del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos del Concurso Científico de la Real Academia Nacional de Farmacia 2012. An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 253-273

ABSTRACT

The long-term effects of atenolol in drinking water throughout the whole lifespan (3.3 years) of a mammal (128 C57BL/6 male mice-SPF) were studied for the first time. We observed beneficial aging-related changes: decreases in the degree of unsaturation of mitochondrial membranes and of the 22:6n-3 fatty acid, an increase in oleic acid, as well as decreases in protein oxidation, glycooxidation and lipoxidation and oxidative damage in mtDNA in heart and skeletal muscle mitochondria. However, a secondary effect of the drug only in old animals was detected that agrees with recent meta-analyses in human patients.

Keywords: Oxidative stress; β -blocker; Heart rate.

RESUMEN

La suplementación de larga duración con atenolol convierte la insaturación de las membranas mitocondriales de músculo esquelético y de corazón de ratón en la característica de mamíferos de supervivencia diez veces mayor. Efectos sobre la longevidad media y máxima

Se estudia por primera vez el efecto a largo plazo del atenolol en el agua de bebida durante toda la vida (3,3 años) de un mamífero (128 ratones C57BL/6 macho-SPF). Observamos cambios beneficiosos relacionados con el envejecimiento: descenso en el grado de insaturación de las membranas mitocondriales y del ácido graso 22:6n-3, un incremento del ácido oleico, y descenso de la oxidación, glicoxidación y lipoxidación de proteínas y daño oxidativo al ADNmt en mitocondrias de corazón y músculo esquelético. Sin embargo, detectamos un efecto secundario del fármaco

sólo en animales viejos que coincide con meta-análisis recientes en pacientes humanos.

Palabras clave: Estrés oxidativo; β -bloqueante; Frecuencia cardíaca.

1. INTRODUCTION

TA new mammalian longevity model based on β -adrenergic receptor signaling interruption at the level of adenylyl cyclase has reported decreased bone and heart aging and increases in mean and maximum longevity in AC5 KO (adenylyl cyclase 5 Knockout) mice (1). We have previously mimicked this model with the β -blocker atenolol in short-term studies (2), in which we have successfully modified one of the only two known traits correlating with longevity in the right sense: the low degree fatty acid unsaturation of the cellular membranes of the tissues of long-lived animals.

Comparative gerontological studies have already unveiled two traits that can explain the different (maximum) longevity of different mammals: long-lived animal species have a low rate of mitochondrial reactive oxygen species production (mitROSp) (3, 4) and a low unsaturation degree of membrane fatty acids (5, 6).

The first of these two factors, mitROSp, can be experimentally decreased with dietary manipulations like caloric restriction (7, 8), protein restriction (9) and methionine restriction (10). But the second one, the unsaturation degree of membrane fatty acids, is more difficult to modify. Increasing dietary saturated fatty acids have unhealthy effects on plasma cholesterol levels, and the tissue global FA (fatty acid) unsaturation is homeostatically regulated in mammalian tissues through control of gene expression (11). Deficiency of essential PUFAs in the diet leads to strong compensatory increases in tissue mead acid (20:3n-9, synthesized from 18:1n-9), a known diagnostic marker of essential FA deficiency, or to increases in MUFAs like 16:1n-7 and 18:1n-9 (12). Homeostatic changes like these are responsible for the failure to effectively change tissue DBI after feeding the animals with diets differing in FA unsaturation (13, 14).

A low unsaturation degree is most important for developing a high longevity because membrane fatty acid double bounds are most susceptible to oxidative attack due to two reasons: a) oxygen and many radical species are several times more soluble in lipid membrane bilayers than in the aqueous solution (15); b) the sensitivity of membranes to lipid peroxidation increases strongly as a function of the number of double bonds per fatty acid molecule. A lower total number of double bounds of membrane fatty acids make these molecules more resistant to lipid peroxidation. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) exhibit the highest sensitivity to ROS induced oxidative damage among cellular macromolecules, and this sensitivity increases as a function of the number of double bonds per fatty acid molecule

(16,17). The negative relationship between membrane fatty acid composition and longevity has been observed in all the animal models studied, including mammals, birds, rodents, honeybees, mussels, and humans (18, 19): the longer the longevity of a species, the smaller the degree of unsaturation of the FAs present in their cellular membranes.

Recently, many mammalian models of extended lifespan caused single gene-mutations have been developed (20, 21). Most of them are related to insulin/IGF-1-like signaling pathways (22). But there are others like *Agtr1a*^{-/-} (Angiotensin II type 1 receptors targeted disrupted) mice (23) and AC5KO (adenylyl cyclase 5 Knockout) mice (1) that also show increased medium and maximum longevity.

In the AC5KO model, extension of lifespan in 129/SvJ-C57BL/6 mice has been obtained through the disruption of β -adrenergic receptor signaling at the Type 5 adenylyl cyclase (AC5) level (1). This mouse showed increased mean and maximum longevity, from 25 to 33 months, and from 33 to 37 months, respectively, and also showed improvements in parameters related to bone and heart age-related deterioration. These improvements seem to be signaled to the nucleus through the Raf/ MEK/ extra cellular signal-regulated kinase (p-ERK) pathway, which was increased in heart and other tissues of the AC5KO mice, together with increases in the protein levels of MnSOD (manganese superoxide dismutase) in heart, kidney and brain, suggesting that a decrease in oxidative stress is involved in the mechanisms responsible for the aging delaying effect.

Two years ago we discovered that the AC5KO model can be mimicked, at least on the short-term, with the drug atenolol, by treating C57BL/6 normal mice during 15 days with this β 1-selective blocker simply added to drinking water (2). In the present study we test the long-term effects of this drug given to mice in their drinking water throughout their whole life, using 128 male mice studied during their whole life span (more than 3 years) under SPF conditions. Based on the successful results of our previous short-term studies (2), we hypothesized that atenolol would chronically decrease the global degree of unsaturation of heart and skeletal muscle (SKM) mitochondrial membranes of mice to levels almost similar to those of species with one order of magnitude higher longevity, and would decrease specific markers of oxidative stress due to lowered *in vivo* lipid peroxidation. In this investigation it is tested for the first time whether modifying one of the only two known correlates of longevity (the double bond index of mitochondrial membranes, DBI) can decrease highly specific markers of oxidative stress in two post-mitotic tissues of a mammal and whether it can modify its longevity.

In those life-long atenolol-treated animals and their controls we studied physiological parameters including rectal temperature, basal metabolic rate, heart rate and blood pressure (at 18 and 35 months of age). Concerning oxidative stress, we measured the rate of ROS production in isolated functional mitochondrial

(mtROSp), mitochondrial oxygen consumption in states 4 (resting) and 3 (phosphorylating), the amounts of the respiratory complex I, II, III and IV proteins, the apoptosis-inducing factor (AIF) which is also required for the assembly/maintenance of complex I (24), the marker of oxidative damage to mitochondrial DNA (mtDNA) 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG), five different specific markers of protein oxidative modification: the specific protein carbonyls glutamic and amino adipic semialdehydes (GSA and AASA) indicating purely protein oxidative modification, the protein glycooxidation markers carboxyethyl lysine (CEL) and carboxymethyl lysine (CML), and the protein lipoxidation markers CML and malondialdehyde lysine (MDAL). We also measured the full fatty acid composition of heart and SKM mitochondrial membranes which allowed us to calculate their global unsaturation indexes (the DBI, and the peroxidizability index, PI). The mitochondrial biogenesis indicators peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator (PGC)-1 α (PGC1), the mitochondrial transcription factor (TFAM), antioxidant regulation transcription factor Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), and the p-ERK and SIRT1 signalling proteins related to longevity (25), as well as the basal metabolic rate of the whole animal, the rectal temperature, and the heart rate, the systolic and diastolic and mean arterial pressures were also measured.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Animals and study design

128 C57BL/6 male mice were maintained in a separate room of Complutense University animal house at the Faculty of Medicine under SPF conditions during their whole life or until some of them were sacrificed to measure physiological or biochemical relevant parameters. 86 of these animals (43 Old control and 43 Old-AT-treated) were used only to obtain the survival curves. These animals were maintained under optimum conditions (12:12 (light-dark) cycle, 22°C \pm 2°C and 50% \pm 10% relative humidity), were left intact during their whole lifespan (except for the AT-treatment) and their day of spontaneous death was recorded. The treatment with atenolol was started at 2 months of age. A separate group of 42 animals (21 controls and 21 AT-treated) was established at the beginning of the experiment in order to measure the different physiological and biochemical parameters when reaching old age (after 16 months of experimentation). Among the 21 reporter animals of each of these two groups (control and AT-treated), 7 animals were used for the ROS and oxygen consumption measurements in isolated mitochondria, 7 animals were used for the measurement of 8-oxodG, and 7 animals were used to assay the rest of the biochemical parameters after being sacrificed by cervical dislocation. At the time of sacrifice these reporter animals had 18 months of age. The animals in the atenolol group had free access to a solution of 0.1 g/L of

atenolol (Sigma, A7655) in drinking water. The diet (Panlab, Spain) was offered *ad libitum* to all animals. Just after cervical dislocation, hearts and SKM (total hind limb muscle) were immediately processed to isolate functional mitochondria, which were used to measure mitochondrial respiration and rates of mtROSp. Whole hearts and SKM tissue samples (total hind limb muscle) were stored at -80°C for the posterior analyses of the rest of the biochemical parameters. The experimental animal subject review committee from the Complutense University of Madrid approved all the experiments in C57BL/6 mice.

2.2. Physiological parameters

Rectal temperature was measured using a rectal probe (Thermocouple thermometer model 8112-20, Cole-Parmer Instrument Company). The measurements were performed three times in each mouse, always at 11:00, on three different days separated 15 days from each other, during the last 2 months of experimentation. To estimate the basal metabolic rate, individual mice were placed inside a closed-system respirometer (total volume 2,600 ml) and the carbon dioxide produced was captured with a 10% KCl solution. The rate of oxygen consumption of each animal was measured at rest with an oxygen analyzer and probe (Model 600 Can 1691, Engineered Systems & Designs) at 23±1°C. The measurements were realized at the end of the pharmacological treatment. Heart rate and blood pressure were measured in conscious mice with a noninvasive tail-cuff manometry system (LE5001 Panlab Harvard Apparatus). Each animal was acclimatized for at least three practice sessions in the three consecutive weeks before the final measurements were recorded. In each session 8 consecutive readings were recorded and their average was used to obtain systolic, diastolic, and mean blood pressure. These measurements were performed during the last 2 months of experimentation.

2.3. Isolation of functional mitochondria, oxygen consumption and ROS production

Mitochondria were obtained from fresh tissue by the procedure of Mela and Seitz (26) with modifications. After checking the functionality and phosphorylation capacity of the mitochondria (high respiratory control ratios) the rate of mtROSp was measured by the fluorometric method established at our laboratory (27). The rate of oxygen consumption of heart and SKM mitochondria was measured at 37°C in a water-thermostated incubation chamber with a computer-controlled Clark-type O₂ electrode (Oxygraph, Hansatech, UK) as previously described (28).

2.4. Oxidative damage to mtDNA (8-oxodG)

Isolation of mtDNA was performed by the method of Latorre and cols (29) adapted to mammals (30). The isolated mitochondrial DNA was digested to deoxynucleoside level and the level of oxidative damage in mtDNA was estimated by measuring the amount of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG)

referred to that of the non-oxidized base (deoxyguanosine, dG) by HPLC-EC as previously described (31).

2.5. Measurement of mitochondrial complexes I to IV, AIF, SIRT1, PGC1, TFAM, Nrf2 and ERK

The amounts of a) the mitochondrial respiratory chain complexes (I to IV), the complex I regulatory factor AIF, the mitochondrial biogenesis protein indicators SIRT1, PGC1, and TFAM, the Nrf2-ARE pathway marker Nrf2, and ERK1/2 pathway marker (ERK1/2 and phospho-ERK1/2) were estimated using western blot analyses as previously described (2).

2.6. Oxidation-derived protein damage markers

GSA, AASA, CML, CEL and MDAL were determined as trifluoroacetic acid methyl esters (TFAME) derivatives in acid hydrolyzed delipidated and reduced mitochondrial protein samples by GC/MS (32) using a HP6890 Series II gas chromatograph (Agilent, Barcelona, Spain) with a MSD5973A Series detector and a 7683 Series automatic injector, a HP-5MS column (30-m x 0.25-mm x 0.25- μ m), and the described temperature program (32). The amounts of product were expressed as μ moles of GSA, AASA, CML, CEL or MDAL per mol of lysine.

2.7. Fatty acid analyses and global fatty acid unsaturation indexes

Fatty acids from mitochondrial lipids were analyzed as methyl esters derivatives by gas chromatography (GC) as previously described (33). The following fatty acyl indices were also calculated: saturated fatty acids (SFA); unsaturated fatty acids (UFA); monounsaturated fatty acids (MUFA); polyunsaturated fatty acids (PUFA) from n-3 and n-6 series (PUFAn-3 and PUFAn-6); and average chain length (ACL)=[($\Sigma\%$ Total₁₄ x 14) + ($\Sigma\%$ Total₁₆×16) + ($\Sigma\%$ Total₁₈×18) + ($\Sigma\%$ Total₂₀×20) + ($\Sigma\%$ Total₂₂×22) + ($\Sigma\%$ Total₂₄×24)]/100. The density of double bonds in the membrane was calculated by the Double Bond Index, DBI = [(1× Σ mol% monoenoic) + (2× Σ mol% dienoic) + (3× Σ mol% trienoic) + (4× Σ mol% tetraenoic) + (5× Σ mol% pentaenoic) + (6× Σ mol% hexaenoic)]. Finally, the membrane susceptibility to peroxidation was calculated by the Peroxidizability Index, PI= [(0.025× Σ mol% monoenoic) + (1× Σ mol% dienoic) + (2× Σ mol% trienoic) + (4× Σ mol% tetraenoic) + (6× Σ mol% pentaenoic) + (8× Σ mol% hexaenoic)].

2.8. Statistics

Values were expressed as means \pm standard error of the mean (SEM). Comparisons between groups were analyzed by ANOVA followed by DMS tests for paired groups and Student-t test. The survival curve was performed by Kaplan-Meier in Statgraphics, and mean and maximum (last 10% surviving individuals) life span values were analysed by the log rank test. The minimum level of statistical significance was set at P< 0.05 in all the analyses.

3. RESULTS

The mean body weight of the animals did not show significant differences between the two experimental groups at the beginning neither at the end of the experiment (results not shown).

No significant differences were observed between atenolol and control animals for rectal temperature (35.24 ± 0.1 °C in Old Controls and 35.51 ± 0.2 in Old AT) or basal metabolic rate (3.44 ± 0.28 mlO₂/g hr in Old Controls and 3.32 ± 0.3 in Old AT).

Neither the basal rates of mtROSp of heart mitochondria (with glutamate/malate and with succinate+rotenone) nor the maximal ones (with glutamate/malate+rotenone) were significantly modified by atenolol treatment (results not shown). In the case of SKM mitochondria only a significant decrease with succinate+rotenone (from 0.92 ± 0.07 in Old Controls to 0.75 ± 0.05 in Old AT $P < 0.05$) was detected. No significant differences in mitochondrial oxygen consumption were observed either, except for significant decreases only in the case of state 3 respiration in heart with both complex I-linked (glutamate/malate: 222.7 ± 30.0 nanomoles of O₂ /min mg mitochondrial protein in Old Control and 131.8 ± 8.7 in Old AT, $P < 0.05$) and complex II-linked (succinate+rotenone: 270.4 ± 21.2 nanomoles of O₂ /min mg mitochondrial protein in Old Control and 201.4 ± 8.8 in Old AT) respiration.

Concerning respiratory complexes and AIF, no significant differences were observed for any parameter in the case of SKM (results not shown). In heart mitochondria, only the amount of complex II increased from 104.0 ± 5.8 in Old Controls to 135.6 ± 12.6 in Old AT ($P < 0.05$; ratio of complex II/porin in arbitrary units), the rest of the parameters not showing significant variations (results not shown).

Atenolol treatment decreased the highly unsaturated 22:6n-3 FA and increased the much less unsaturated 18:1n-9 in heart and SKM (Figure 1). The decrease in 22:6n-3 was of 23% in heart and of 38% in SKM. Besides, the ratio 22:6n-3/24:6n-3, an index of the final steps of n-3 synthesis through β -peroxisomal lipoxidation (Figure 2) decreased in both tissues in the atenolol group (Figure 1; by 37% in SKM and by 46% in heart).

AT animals showed higher 18:1n-9 (large increase), 20:4n-6 and 24:5n-3, and lower 14:0, 20:3n-6 and especially 22:6n-3 than controls (18:1n-9 and 22:6n-3 values are shown in Figure 1 while the other FAs, which were measured, are not shown). In SKM, AT animals showed higher 18:1n-9 and 20:2n-6, and lower 22:6n-3 (large decrease) than controls. The increase in 18:1n-9 was of 30% in SKM and of 56% in heart. As a result of those changes, the global indexes of fatty acid unsaturation DBI and PI were strongly decreased by the atenolol treatment in both kinds of mitochondria (Figure 3). The DBI decreased by 22% in SKM and by 11%

in heart mitochondria, while the PI was decreased by 31% in SKM and by 17% in heart mitochondria.

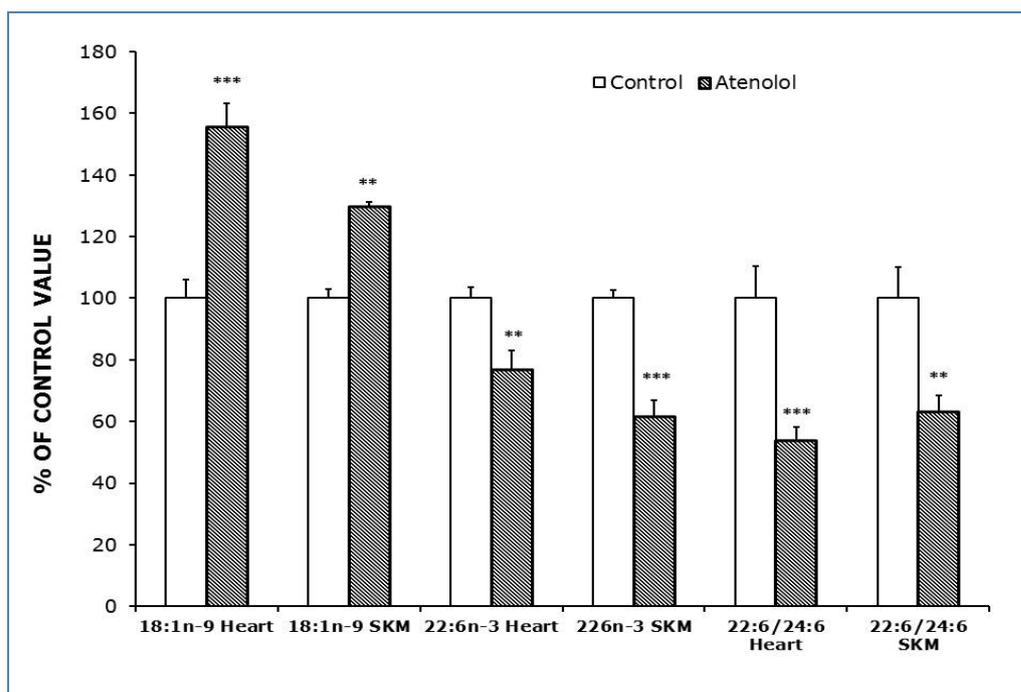


Figure 1.- Oleic (18:1n-9), Docosahexanoic (22:6n-3) and Peroxisomal Beta-Oxidation (22:6/24:6 ratio) from control and atenolol treated mice. Values are means \pm SEM from 5-6 (heart) or 6 (SKM) different animals and are expressed as percentage of those in the controls for each parameter. Control values: 12.85 ± 0.76 (18:1n-9, heart); 28.03 ± 1.01 (22:6n-3, heart); 187.94 ± 19.46 (22:6/24.6, heart); 16.39 ± 0.47 (18:1n-9, SKM); 21.29 ± 0.53 (22:6n-3, SKM); 103.44 ± 10.32 (22:6/24.6, SKM). Asterisks represent significant differences between the control and the atenolol group. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

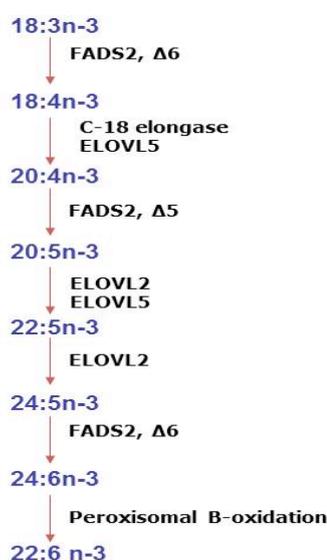


Figure 2.- Metabolic pathway from fatty acids of the n-3 serie. The name of the mouse enzymes likely to contribute to elongation (ELOVL 2 and 5) and desaturation (Stearoyl-CoA desaturase, SCDs) steps are indicated in these pathway.

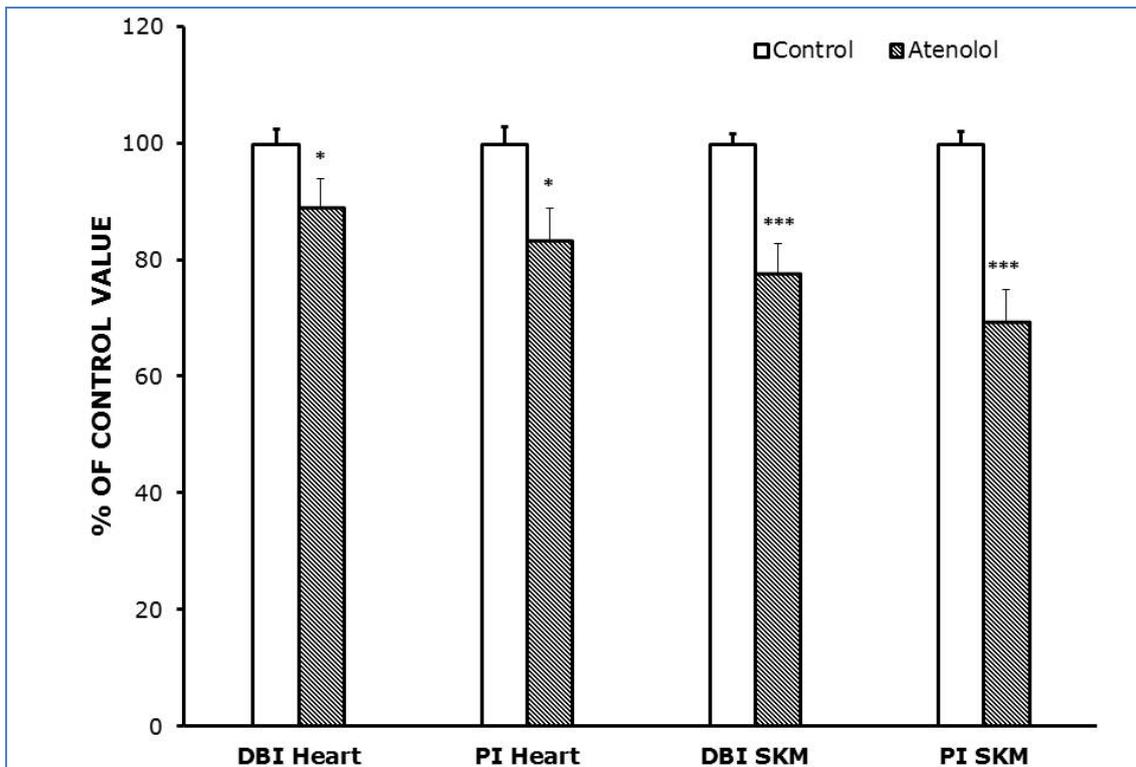


Figure 3.- Double bond index (DBI) and peroxidizability index (PI) in heart (A) and SKM (B) mitochondrial fatty acids from control and atenolol treated mice. Values are means \pm SEM from 6 (heart) or 5-6 (SKM) different animals and are expressed as percentage of those in the controls for each parameter. Control values: 232.60 ± 5.90 (DBI, heart); 268.39 ± 8.02 (PI, heart); 203.91 ± 3.38 (DBI, SKM); 217.36 ± 4.52 (PI, SKM). For calculation of DBI and PI values see the Materials and Methods section. Asterisks represent significant differences between the control and the atenolol group. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Oxidative damage in heart mtDNA significantly decreased from 20.65 ± 3.81 8-oxodG/ 10^5 dG in Old Controls to 10.07 ± 1.37 in Old AT ($P < 0.05$), whereas in the case of SKM the trend to decrease in the AT group did not reach statistical significance (results not shown).

Protein oxidation, glycooxidation and lipoxidation markers are shown in Figures 4 and 5. In heart mitochondria all the five markers measured, GSA, AASA, CEL, CML and MDAL, were significantly lower in Old AT-animals than in Old controls (Figure 4). In SKM mitochondria the values of GSA, AASA, CML and MDAL were significantly lower in the atenolol treated animals. These decreases were rather strong and ranged from 31% to 51% depending on the parameter measured and the tissue considered. Only in the case of CEL the decrease shown by AT compared to controls did not reach statistical significance (Figure 5). Concerning mitochondrial biogenesis, antioxidant factors and signaling proteins, SIRT1 increased and Nrf2 decreased in Old AT in heart ($P < 0.05$) but not in SKM mitochondria. TFAM decreased in Old AT in SKM ($P < 0.05$) but not in heart mitochondria, while PGC1 did not show significant changes in any organ (results not shown). The ratio of the phosphorylated

to total ERK (p-ERK/total ERK) showed significantly higher values in the atenolol than in the control group (Figure 6).

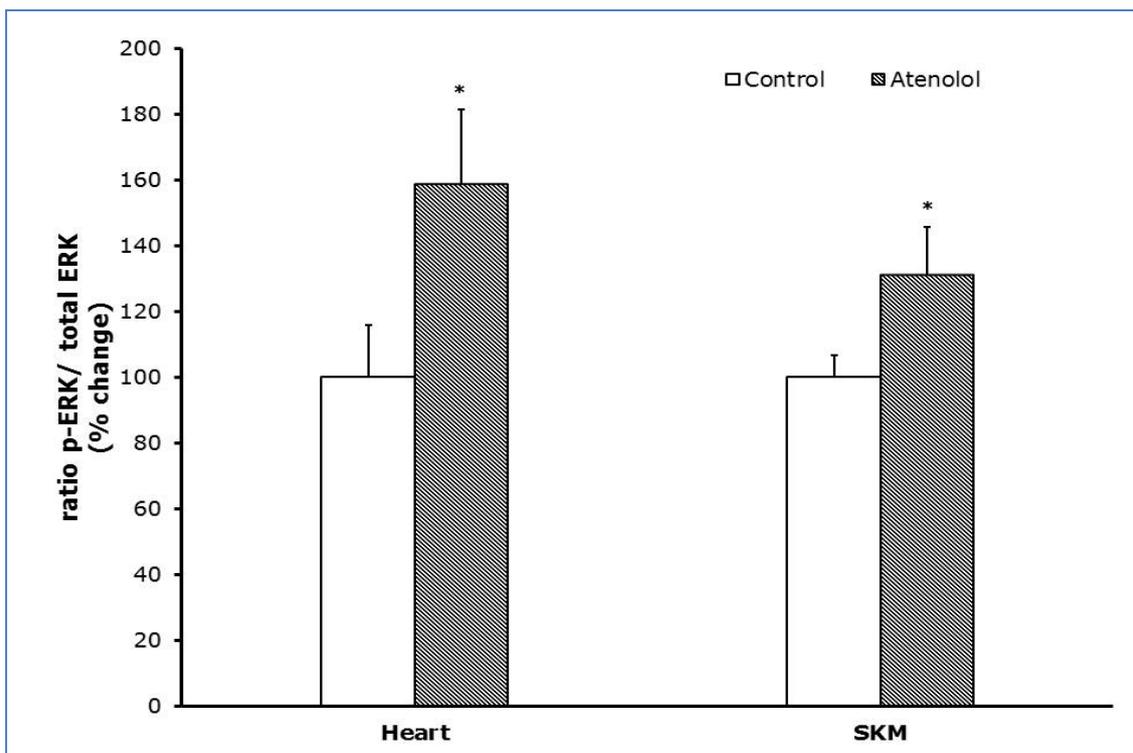


Figure 4.- Protein oxidation, glycoxidation and lipoxidation indicators in heart mitochondria from control and atenolol treated mice. Values are means \pm SEM from 6 different animals and are expressed as percentage of those in the controls for each protein modification marker. Control values: 3,817 \pm 128 (glutamic semialdehyde, GSA); 434 \pm 37 (AASA, amino adipic semialdehyde, AASA); 557 \pm 41 (carboxyethyl-lysine, CEL); 1038 \pm 77 (carboxymethyl-lysine, CML); 16295 \pm 364 (malondialdehyde-lysine, MDAL). Units: μ mol/mol lysine. Asterisks represent significant differences between the control and the atenolol group. ** P<0.01; *** P<0.001.

No significant differences in heart rate, or the systolic, mean and diastolic arterial blood pressures were observed at 18 months of age (Figure 7A). In contrast, the heart rate measured at 35 months of age was significantly and strongly decreased in the atenolol group (Figure 7B), whereas the systolic, mean and diastolic arterial pressures trends to decreased values did not reach statistical significance (Figure 7B).

Finally, the Kaplan Meier's survival curve (Figure 8) showed a similar mean life span (50% survival) and a lower maximum (at 10% survival) longevity in the atenolol group only at old age, the difference in survival starting only after 28 months of age.

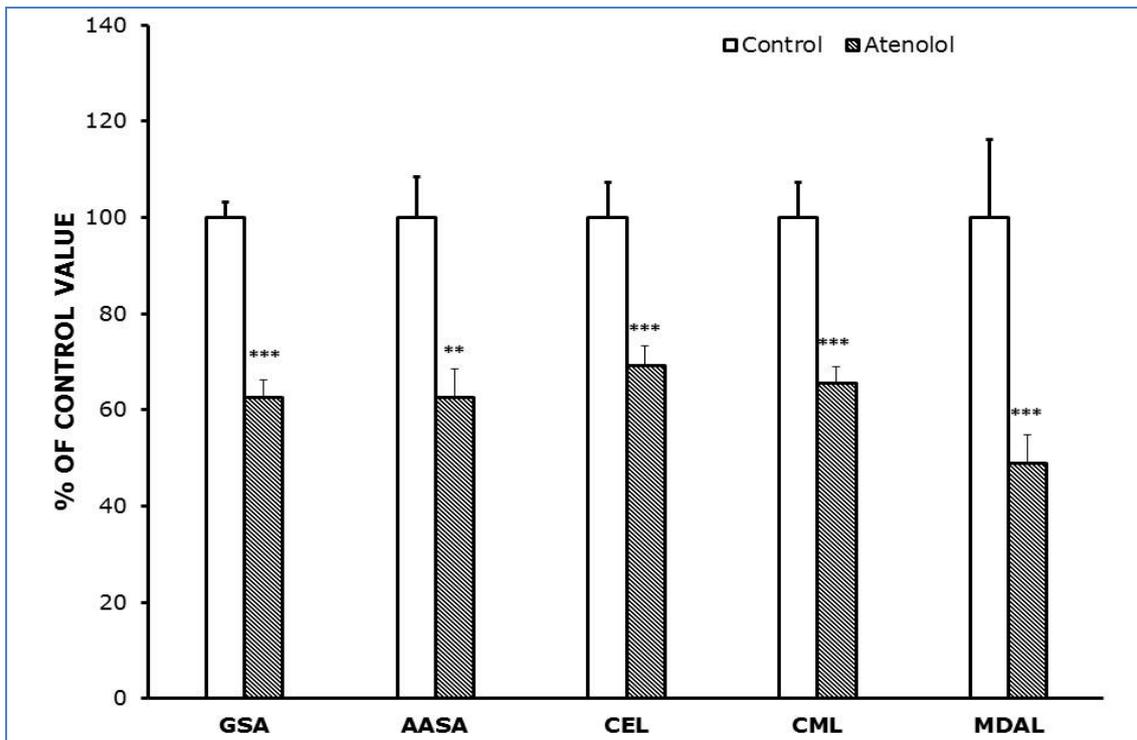


Figure 5.- Protein oxidation, glycooxidation and lipoxidation indicators in SKM mitochondria from control and atenolol treated mice. Values are means \pm SEM from 6 different animals and are expressed as percentage of those in the controls for each protein modification marker. Control values: $4,415 \pm 272$ (glutamic semialdehyde, GSA); 463 ± 24 (AASA, amino adipic semialdehyde, AASA); 380 ± 25 (carboxyethyl-lysine, CEL); 770 ± 48 (carboxymethyl-lysine, CML); 632 ± 65 (malondialdehyde-lysine, MDAL). Units: $\mu\text{mol/mol}$ lysine. Asterisks represent significant differences between the control and the atenolol group. ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

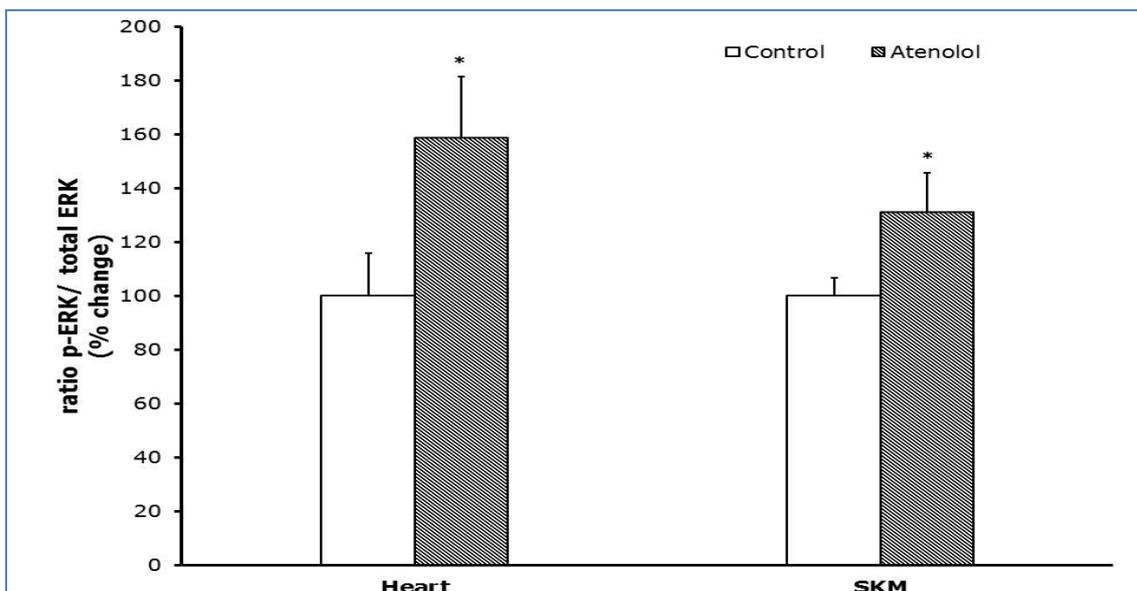


Figure 6.- Ratio p-ERK/total ERK. Ratio of phosphorylated versus total ERK (nonphosphorylated) (p-ERK/ERK); ERK represents the sum of the 44-kD and the 42-kD ERK proteins. Values presented are means \pm standard error of the mean (SEM) from $n=4$ different animals per group over immunoreactivity in control values. Asterisk represents significant differences compared to values of untreated animals. (*) $p < 0.05$.

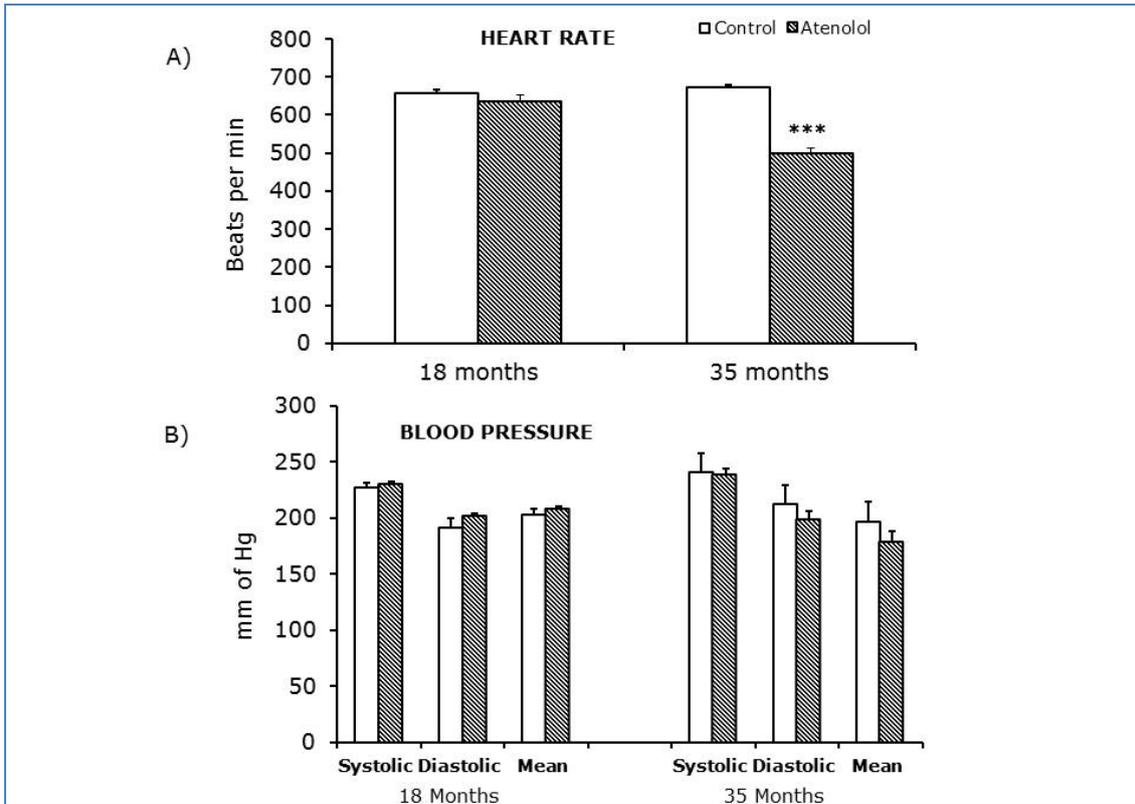


Figure 7.- Blood pressure parameters (B) and heart rate (A) measured at 18 and 35 months. Values are means \pm SEM from 7 different animals. Blood pressure units: mm of Hg Heart rate units: bits per min. (***) $p < 0.001$.

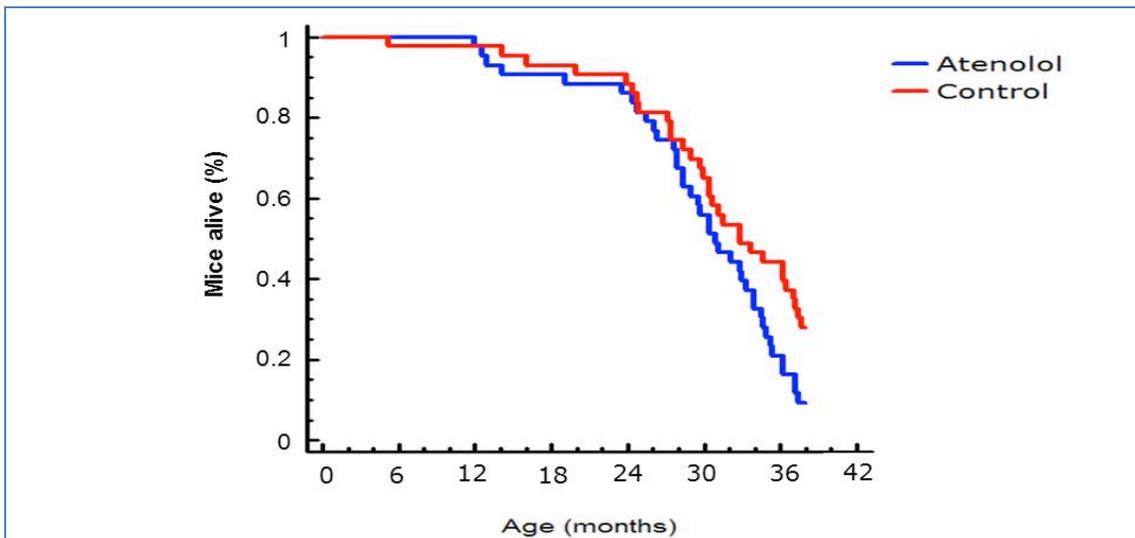


Figure 8.- Kaplan-Meier survival curve for control and atenolol-treated C57BL6 male mice. (log-rank $\chi^2 = 4.40401$, $P = 0.0358512$) life span extension in control mice ($n = 43$ for control and $n = 43$ for atenolol mice).

4. DISCUSSION

In the present work we comprehensively studied, for the first time, the chronic effect of the β -1 blocker atenolol on various metabolic and oxidative stress parameters during the whole life span of a sufficiently large population of healthy mice.

After 16 months of continuous atenolol treatment, we observed quantitatively important decreases in the fatty acid unsaturation degree of mitochondrial membranes, as well as in protein oxidation, lipoxidation and glycooxidation in mitochondria from the two tissues studied: heart and SKM. This agrees with similar changes observed after 15 days of treatment with the same dose of atenolol in mouse heart (2), indicating that the most important capacity of this drug to lower this parameter can be maintained at least during most of the lifespan of the animals.

These results indicate that blocking of the β 1-adrenergic signaling pathway improves one of the only two known parameters which link longevity and oxidative stress, the DBI and PI (reviewed in 34, 35). Strikingly, the potency of atenolol is so great that it can decrease the DBI of mitochondrial membranes from that of a mouse to that typical of a mammal of around 40 years in longevity (2), taking into account the known relationship between membrane FA unsaturation and mammalian longevity (34), also in relation to the extended life-span of the AC5KO mice (1).

In our longevity experiment, the atenolol treatment did not modify body weight, heart and SKM organ weight, or food intake, this ruling out the possibility that the observed changes could be secondary effects of caloric restriction. In our study, atenolol treatment did not change either complex I or III mtROS generation rate neither with glutamate/malate nor with pyruvate/malate as substrates or with the supplemented complex I and III specific inhibitors rotenone or antimycin A. These results agree with those from our short-term study in the heart of atenolol-treated C57BL/6 mice (2), and are in contrast to dietary, protein and methionine restriction models in which mtROS_p decreases at complex I (36). All of these dietary manipulations increase longevity and decrease mtROS_p without changing the DBI and PI (37). However, the β -adrenergic signalling blockade seems to decrease the other longevity-related trait (lowers the DBI and PI) without changing mtROS_p. Therefore, these two manipulations, the dietary restrictions and the atenolol treatment, seem to be complementary.

Supporting that general idea, long-term treatment with atenolol did not change any of the mitochondrial respiratory chain complexes except for the increase in complex II (70 KDa subunit, Flavoprotein) in heart mitochondria, mtROS_p and the level of 8-oxodG in mtDNA (which indicates the balance between mtDNA oxidative damage and repair). mtROS_p and 8-oxodG in mtDNA usually change together and in similar direction in different models of dietary restriction studied and both are lower

in long-lived compared to short-lived animal species (38). In the present study, although the atenolol treatment did not decrease mtROSp, the oxidative damage to mtDNA was significantly lower in heart mitochondria in the atenolol group and tended to be lower (non significant trend) in SKM mitochondria. Rarely, but sometimes, the changes in both parameters (mtROSp and mtDNA oxidative damage) in longevity modifying experiments have been apparently dissociated (39). Maybe the longest time of drug exposure of the present study can induce an increase in the mitochondrial mtDNA repair systems, resulting in the decreased 8-oxodG levels observed.

There is a systematic negative relationship between tissue membrane fatty acid unsaturation and longevity in all mammals studied to date (35, 40). Extraordinarily long-lived animals like birds (41, 42), naked mole rats (43), the echidna (44) and queen honey bees (35) also show a common trait: they also have a low fatty acid unsaturation degree in their tissue cellular membranes. This makes their membranes more resistant to lipid peroxidation, since the sensitivity of membrane lipids to lipid peroxidation increases in an exponential way as a function of the number of double bonds per fatty acid molecule (17). This also occurs in long-lived wild-derived strains of mice when compared to genetically heterogeneous laboratory mice (45). In our study, the atenolol treatment significantly decreased the DBI in heart and SKM (11% and 22.35% respectively total decrease) and the PI also in both tissues (16.76% and 30.66% respectively total decrease). These results are in general agreement with our previous study in C57BL/6 mice heart, in which the decrease was 40% for the PI and 30% for the DBI respectively, although this was observed, at variance with the present investigation, in total heart tissue instead of in heart and SKM mitochondria (2).

The longevity-related decrease in global FA unsaturation is due to a redistribution between the type of PUFAs present from the highly unsaturated docosahexaenoic (22:6n-3) and sometimes arachidonic (20:4n-6) acids in short-lived animal species to the less unsaturated linoleic acid (18:2n-6) and, in some cases, linolenic acid (18:3n-3) in the long-lived ones at mitochondrial and tissue levels (40). Among these FAs, the one contributing most to the low global fatty acid unsaturation of long-lived animals is 22:6n-3. This agrees strikingly well with our results, which show an important decrease in the amount of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in the atenolol treated animals in mitochondria from both tissues. It is also interesting that the fatty acid showing quantitatively more important increases in long lived mammals in general is 18:2n-6, but in the bird case, important increases occurs frequently for the monounsaturated oleic acid (18:1n-9) in long-lived species (46), a FA with well known beneficial effects in many nutritional studies, and this FA also increases in our case in the long-life atenolol-treated group.

Docosahexaenoic acid (22:6n-3) has six double bonds and consequently has five bis-allylic hydrogens per chain, and is 320-times more susceptible to ROS attack than oleic acid (18:1n-9), which is consistent with the strong decrease in secondary protein lipoperoxidation observed (lower MDAL and CML in AT-treated animals). In our case, a most relevant factor that contributed to decrease the DBI and PI seems to be the strong decrease in β -peroxisomal lipoxidation (estimated as the 22:6n-3/24:6n-3 ratio) in the atenolol group. The main function of this process seems to be the partial degradation of very-long chain fatty acids, producing chain-shortened acyl-CoAs, acetyl-CoA and NADH, which may exit from peroxisomes via pores that permit the influx of substrates and efflux of products of β -oxidation. These substrates go back to the mitochondria to complete the fatty acid oxidation process (47).

The decrease in DBI and PI confers higher resistance of membranes to lipid peroxidation and lowers lipoxidation-dependent damage to macromolecules, like proteins, and (likely) mtDNA. The long-term atenolol treatment was able to very strongly and significantly decrease protein oxidation (GSA and AASA), glycoxidation (CEL and CML) and lipoxidation (CML and MDAL) markers in both tissues, except for CEL in SKM which also showed a trend to decrease that did not reach statistical significance. Aging is known to increase protein oxidation in association with a functional decline of proteasome activity (48) whereas decreases in protein oxidation and increases in the catabolism of modified proteins have been described in experimental modifications that extend longevity, like dietary restriction (49) and methionine restriction (50, 33) even when applied to old animals (51). The decreased fatty acid unsaturation degree most likely leads to a lower lipid-derived secondary free radical formation, decreased specific protein oxidation and damage to other macromolecules (52) which was reflected, in our case, in the decrease in protein oxidation, glycoxidation and lipoxidation, as well as, in the case of the heart, mtDNA oxidative damage.

The molecular mechanism suggested to explain these changes could be the following: binding of hormones and neurotransmitters to β -adrenergic receptors activates adenylate cyclase (AC) increasing cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and then protein kinase A (PKA). PKA inhibits Raf-1, which, in turn, stimulates p-MEK and p-ERK. p-ERK enters the nucleus, where it can modify gene expression through the action of many different molecules. Because AC stimulates PKA, and PKA inhibits Raf-1, an increase in the Raf/MEK/ERK pathway is expected when AC is lacking or β -adrenergic receptors are blocked. In agreement with this, an increase in p-MEK and p-ERK was observed in tissues of AC5KO mice, including the heart (1). The same happens in our pharmacological model of β -adrenergic blockade by atenolol, in which p-ERK levels were increased both at short-term in the mice heart (2), as well as in the present study after long-life AT treatment in heart and SKM mitochondria. This protein can enter the nucleus and activate different transcription factors,

modifying genes related to oxidative stress, including genes coding for desaturase and elongase enzymes, as well as those controlling peroxisomal β -oxidation, and are rate limiting for the synthesis of the highly peroxidizable 22:6n-3 FA. Lower desaturase/elongase/peroxisomal β -oxidation activities induced by the AT-blockade (via low AC and high p-ERK) would decrease 22:6-n3 formation from its less unsaturated 18:3n-3 dietary precursor.

Concerning cellular signaling, AMPK responds to high intracellular levels of AMP, and activates (besides others) the expression of SIRT1 (Silent information regulator 1) (53). SIRT1 regulates energy metabolism, cell apoptosis, cell proliferation and inflammation, as well as stress resistance by means of FOXO, p53 and NF- κ B signaling, increasing the intracellular concentration of NAD⁺. SIRT1 is increased in caloric restriction (life-extending) models, and can activate cellular stress resistance, playing an anti-aging role (54). In our study, SIRT1 levels were higher after the atenolol treatment in the heart, which indicates that the blocking of AC inactivates the AMPc. That would increase SIRT1 expression through the ensuing changes in intracellular levels of AMP then of AMPK.

Nrf2 is the “master regulator” of the antioxidant response modulating the expression of many several antioxidant-codifying genes (55), and TFAM is a regulator of mtDNA transcription, whose lack leads to severe respiratory chain deficiency (56). Since it is now well known that long-lived animals have lower tissue levels of antioxidant enzymes and other endogenous antioxidants (57) and less endogenous DNA base excision repair (BER) activity (58), which are secondary events to the lower rate of mtROS of long-lived animal species (59, 37), it is not strange that Nrf2 and TFAM were decreased after atenolol treatment.

Finally, although our results show an improvement in parameters related with longevity, a low DBI, PI, protein oxidation and lipoxidation in mitochondria from both tissues, and in mtDNA oxidative damage (in the case of heart), this was not enough to increase longevity, as it is evident from the survival curves finally obtained, since atenolol treated mice did not live longer than the control animals. Although mean life span was similar in both groups, only at the end of the life span and in very old animals (equivalent to 70-80 years old humans) survival was somewhat decreased after long-term treatment with atenolol. This can be due to a deleterious secondary effect of the drug. All β -blockers act by decreasing blood pressure/heart rate (60), and that is known to be advantageous for coronary disease patients, or for those surviving after heart attacks or other serious cardiovascular illnesses. However, recent meta-analyses in humans are suggesting that in the case of old hypertensive patient's atenolol can decrease instead of increase survival (61). When old patients are treated with β -blockers (atenolol is used in around 75% of cases) rigid arteries typical of old people can result in sporadically too low diastolic or systolic blood pressures, which, together with the aged myocardium of old people

can increase sudden cardiac death and thus mortality. It seems that the most important secondary effect of atenolol is the strongly decrease in heart rate that it induces (62, 63). The meta analyses recently performed in humans agree with our results in mice, because we did not see any differences in blood pressure or heart rate when measured at 18 months of age, whereas heart rate was strongly and significantly decreased in the atenolol group at 35 months of age (499 mmHg in Old AT compared to 674 mmHg in Old controls). We believe that our results are most important concerning future cardiologic treatments in humans since there are available antihypertensive drugs alternative to atenolol, and they constitute the first study of the long-life effects of atenolol in a large population of healthy mammal.

5. CONCLUSION

1.- The long-life treatment with the β -blocker atenolol in drinking water of a large population of mice strongly decreases the degree of fatty acid unsaturation of skeletal muscle and mitochondrial membranes, the only parameter known, apart from a low rate of mitochondrial ROS generation, that correlates with longevity in the right way.

2.- That change seems to be due to a large extent to a decrease in desaturase/elongase/peroxisomal β -oxidation activities, which are rate limiting for the synthesis of the highly unsaturated docosahexaenoic acid (22:6n-3). This fatty acid is universally avoided in the tissue cellular membranes of long-lived mammalian and bird species.

3.- Those decreases are due to β -adrenergic blockade-induced increases in p-ERK signaling to the nucleus, and lead to strong decreases in oxidation, glycooxidation and lipoperoxidation of mitochondrial proteins, as well as in oxidative damage to mtDNA (in the case of heart tissue).

4.- These beneficial changes were not translated into increased (maximum) longevity most likely due to a secondary detrimental effect of the drug on heart frequency, and likely eventual falls in arterial pressure, only evident in very old animals, whereas the mean life span was not altered. These effects are most relevant for consideration of possible detrimental effects of atenolol, recently detected (meta-analyses from 2008 on) only in old hypertensive human subjects.

6. ACKNOWLEDGMENTS

This investigation was supported in part by I+D grants from the Spanish Ministry of Science and Innovation (BFU2008-00335/BFI) to G.Barja.

7. REFERENCES

1. Yan, L.; D.E. Vatner, D.E.; O'Connor, J.P.; Ivessa, A.; Ge, H.; Chen, W.; Hirotsu, S.; Ishikawa, Y.; Sadoshima, J.; Vatner, S.F. Type 5 adenylyl cyclase disruption increases longevity and protects against stress. *Cell*, 2007; *130*, 247–258.
2. Sanchez-Roman, I.; Gomez, J.; Naudi, A.; Ayala, V.; Portero-Otín, M.; Lopez-Torres, M.; Pamplona, R.; Barja, G. The beta-blocker atenolol lowers the longevity-related degree of fatty acid unsaturation, decreases protein oxidative damage, and increases extracellular signal-regulated kinase signaling in the heart of C57BL/6 mice. *Rejuven Res* 2010; *13*, 683–693
3. Barja, G.; Cadenas, S.; Rojas, C.; Pérez-Campo, R.; López-Torres, M. Low mitochondrial free radical production per unit O₂ consumption can explain the simultaneous presence of high longevity and high aerobic metabolic rate in birds. *Free Radic Res* 1994; *21*, 317–327
4. Barja, G.; Mitochondrial oxygen consumption and reactive oxygen species production are independently modulated: implications for aging studies. *Rejuven Res* 2007; *10*, 215–224
5. Pamplona, R.; Portero Otín, M.; Riba, D.; Ruiz, C.; Prat, J.; Bellmunt, M.J.; Barja, G. Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. *J Lipid Res* 1998; *39*, 1989–94
6. Hulbert, A.J.; Pamplona, R.; Buffenstein, R.; Buttemer, W.A. Life and death: metabolic rate, membrane composition and life span of animals. *Physiological Reviews* 2007; *87*, 1175–1213
7. Hagopian, K.; Chen, Y.; Simmons Domer, K.; Soo Hoo, R.; Bentley, T.; McDonald, R.B.; Ramsey, J.J. Caloric restriction influences hydrogen peroxide generation in mitochondrial subpopulations from mouse liver. *J Bioenerg Biomembr* 2011; *43*, 227–36
8. Gredilla, R.; Barja, G. Caloric restriction, aging and oxidative stress. *Endocrinology* 2005; *146*, 3713–3717
9. Sanz, A.; Caro, P.; Barja, G. Protein restriction without strong caloric restriction decreases mitochondrial oxygen radical production and oxidative DNA damage in rat liver. *J Bioenerg Biomembr* 2004; *36*, 545–552
10. Sanz, A.; Caro, P.; Ayala, V.; Portero-Otín, M.; Pamplona, R.; Barja, G. Methionine restriction decreases mitochondrial oxygen radical generation and leak as well as oxidative damage to mitochondrial DNA and proteins. *FASEB J* 2006a; *20*, 1064–1073
11. Maresca, B., Cossins, A.R. Fatty acid feedback and fluidity. *Nature* 1993; *365*, 606–607.
12. Hoch, F.L. Cardiolipins and membrane function. *Biochim. Biophys Acta* 1992; *1113*, 71–133.
13. Pamplona, R.; Portero-Otín, M.; Sanz, A.; Requena, J.; Barja, G. Modification of the longevity-related degree of fatty acid unsaturation modulates oxidative damage to proteins and mitochondrial DNA in liver and brain. *Experimental Gerontology* 2004; *39*, 725–733
14. Sato, A., Huang, M.Z., Watanabe, S., Okuyama, H., Nakamoto, H., Rada'k, Z., Goto, S. Protein carbonyl content roughly reflects the unsaturation of lipids in skeletal muscle but not in other tissues of stroke-prone spontaneously hypertensive strain (SHRSP) rats fed different fats and oils. *Biol. Pharm. Bull.* 1998; *21*, 1271–1276.
15. Moreau, R.; Nguyen, B.T.; Doneanu, C.E.; Hagen, T.M. Reversal by aminoguanidine of the age-related increase in glycooxidation and lipoxidation in the cardiovascular system of Fischer 344 rats. *Biochem Pharmacol*, 2005; *69*, 29–40.
16. Pratt, D.A.; Tallman, K.A.; Porter, N.A. Free Radical Oxidation of Polyunsaturated Lipids: New Mechanistic Insights and the Development of Peroxyl Radical Clocks. *Acc Chem Res*, 2011; *44*, 458–67.
17. Holman, R.T. Autoxidation of fats and related substances. In: Holman RT, Lundberg WO, Malkin T (eds) Progress in chemistry of fats and other lipids. *Pergamon Press, London*, 1954; 51–98

18. Hulbert, A.J. Metabolism and longevity: Is there a role for membrane fatty acids? *Integr Comp Biol* 2010; 50, 808-17
19. Naudi, A.; Jove, M.; Ayala, V.; Portero-Otin, M.; Barja, G.; Pamplona, R. Regulation of membrane unsaturation as antioxidant adaptive mechanism in long-lived animal species. *Free Rad Antiox* 2011; 1, 3-12.
20. Liang, H.; Masoro, Nelson, J.F.; Strong, R.; McMahan, C.A.; Richardson, A. Genetic mouse models of extended lifespan. *Exp Gerontol*, 2003; 38, 1353-1364
21. Selman, C.; Withers, D.J. Mammalian models of extended healthy lifespan. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2011; 366, 99-107
22. Narasimhan, S.D.; Yen, K.; Tissenbaum, H.A. Converging pathways in lifespan regulation. *Curr Biol*, 2009; 19, 657-6
23. Benigni, A.; Corna, D.; Zoja, C.; Sonzogni, A.; Latini, R.; Salio, M.; Conti, S.; Rottoli, D.; Longaretti, L.; Cassis, P.; Morigi, M.; Coffman, T.M.; Remuzzi, G. Disruption of the Ang II type 1 receptor promotes longevity in mice. *J. Clin. Invest.* 2009; 119, 524-530
24. Porter, A.G.; Urbano, A.G. Does apoptosis-inducing factor (AIF) have both life and death functions in cells? *Bioessays* 2006; 28, 834-843
25. Donmez, G.; Guarente, L. Aging and disease: connections to sirtuins. *Aging Cell* 2010; 9, 285-290
26. Mela, L.; Seitz, S. Isolation of mitochondria with emphasis on heart mitochondria from small amounts of tissue. *Methods Enzymol* 1997; 55, 39-46
27. Barja, G.; The quantitative measurement of H₂O₂ generation in isolated mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* 2002; 34, 227-233
28. Gredilla, R.; Sanz, A.; Lopez-Torres, M.; Barja, G. Caloric restriction decreases mitochondrial free radical generation at Complex I and lowers oxidative damage to mitochondrial DNA in the rat heart. *FASEB J* 2001; 15, 1589-1591
29. Latorre, A.; Moya, A.; Ayala, A. Evolution of mitochondrial DNA in *Drosophila suboscuro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83, 8649-8653
30. Asuncion, J.C.; Millan, A.; Pla, R.; Bruseghini, L.; Esteras, A., Pallardo, F.V.; Sastre, J.; Viña, J. Mitochondrial glutathione oxidation correlates with age-associated oxidative damage to mitochondrial DNA. *FASEB J* 1996; 10, 333-338
31. Barja G.; Herrero A. Oxidative damage to mitochondrial DNA is inversely related to maximum life span in the heart and brain of mammals, *FASEB J*, 2000; 14, 312-318
32. Pamplona, R.; Dalfó, E.; Ayala, V.; Bellmunt, M.J.; Prat, J.; Ferrer, I.; Portero-Otín, M. Proteins in human brain cortex are modified by oxidation, glycooxidation, and lipoxidation. Effects of Alzheimer disease and identification of lipoxidation targets. *J Biol Chem.* 2005; 280(22), 21522-30.
33. Caro, P.; Gomez, J.; Sanchez, I.; Naudi, A.; Ayala, V.; López-Torres, M.; Pamplona, R.; Barja, G. Forty percent methionine restriction decreases mitochondrial oxygen radical production and leak at complex I during forward electron flow and lowers oxidative damage to proteins and mitochondrial DNA in rat kidney and brain mitochondria. *Rejuvenation Res.* 2009; 12(6), 421-34.
34. Pamplona, R.; Barja, G.; Portero-Otín, M. Membrane fatty acid unsaturation, protection against oxidative stress, and maximum life span: a homeoviscous-longevity adaptation. *Ann New York Acad Sci* 2002; 959, 475-490
35. Hulbert, A.J.; Pamplona, R.; Buffenstein, R.; Buttemer, W.A. Life and death: metabolic rate, membrane composition and life span of animals. *Physiological Reviews* 2007; 87, 1175-1213
36. López-Torres, M.; G. Barja, G. Lowered methionine ingestion as responsible for the decrease in rodent mitochondrial oxidative stress in protein and dietary restriction. Possible implications for humans. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1780, 1337-1347

37. Pamplona, R.; Barja, G. An evolutionary comparative scan for longevity-related oxidative stress resistance mechanisms in homeotherms. *Biogerontology* 2011; 12, 409-35
38. Pamplona, R.; Barja, G. Highly resistant macromolecular components and low rate of generation of endogenous damage: two key traits of longevity. *Ageing Res Rev* 2007; 6, 189-210
39. Caro P., Gómez J., Sanz A., Portero-Otín M., Pamplona R., Barja G. Effect of graded corticosterone treatment on aging-related markers of oxidative stress in rat liver mitochondria. *Biogerontology* 2007; 8, 1-11
40. Pamplona, R.; Barja, G.; Portero-Otín, M. Membrane fatty acid unsaturation, protection against oxidative stress, and maximum life span: a homeoviscous-longevity adaptation. *Ann New York Acad Sci* 2002; 959, 475-490
41. Pamplona, R.; Portero-Otín, M.; Requena, J.R.; Thorpe, S.R.; Herrero, A.; Barja, G. A low degree of fatty acid unsaturation leads to lower lipid peroxidation and lipoxidation-derived protein modification in heart mitochondria of the longevous pigeon than in the short-lived rat. *Mech Ageing Dev* 1999; 106, 283-296.
42. Buttemer, W.A.; Battam, H.; Hulbert, A.J. Fowl play and the price of petrel: long-living Procellariiformes have peroxidation-resistant membrane composition compared with short-living Galliformes. *Biol Lett* 2008; 4, 351-354
43. Mitchell, T.W.; Buffenstein, R.; Hulbert, A.J.; Membrane phospholipid composition may contribute to exceptional longevity of the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*): A comparative study using shotgun lipidomics. *Exp Gerontol* 2007; 42, 1053-1062.
44. Hulbert, A.J.; Beard, L.A.; Grigg, G.C. The exceptional longevity of an egg-laying mammal, the short-beaked echidna (*Tachyglossus aculeatus*) is associated with peroxidation-resistant membrane composition. *Exp Gerontol* 2008; 43, 729-733
45. Hulbert, A.J.; Faulks, S.C.; Harper, J.M.; Miller, R.A.; Buffenstein, R. Extended longevity of wild-derived mice is associated with peroxidation-resistant membranes. *Mech Ageing Dev* 2006; 127, 653-657
46. Pamplona, R.; Prat, J.; Cadenas, S.; Rojas, C.; Pérez-Campo, R.; López-Torres, M.; Barja G. Low fatty acid unsaturation protects against lipid peroxidation in liver mitochondria from long-lived species: the pigeon and human case. *Mechanisms of Ageing and Development* 1996; 53, 86 53-66
47. Vance, D.E.; Vance, J. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes; Bernardi, G., Ed.; New Comprehensive Biochemistry; ELSEVIER, 1996; 31, p 91
48. Kastle, M.; Grune, T. Protein oxidative modification in the aging organism and the role of the ubiquitin proteasomal system. *Curr Pharm Des* 2011; 17, 4007-4022
49. Dhahi, J.M.; Monte, P.L.; Wingo, J.; Rowley, B.C.; Cao, S.X.; Waldford, R.L.; Spindler, S.R. Caloric restriction alters the feeding response of key metabolic enzyme genes. *Mech Ageing Dev* 2001; 122, 1033-1048
50. Caro, P.; Gómez, J.; López-Torres, M.; Sánchez, I.; Naudí, A.; Jove, M.; Pamplona, R.; Barja, G. Forty percent and eighty percent methionine restriction decrease mitochondrial ROS generation and oxidative stress in rat liver. *Biogerontology* 2008; 9, 183-196
51. Sanchez-Roman, I.; Gómez, A.; Pérez, I.; Sanchez, C.; Suarez, H.; Naudí, A.; Jové, M.; Lopez-Torres, M.; Pamplona, R.; Barja G. Effects of aging and methionine restriction applied at old age on ROS generation and oxidative damage in rat liver mitochondria, *Biogerontol.* 2012; 13, 399-411.
52. Spiteller, G. Is lipid peroxidation of polyunsaturated fatty acids the only source of free radicals that induce aging and age-related diseases? *Rejuven Res* 2010; 13, 91-103
53. Salminen, A.; Kaarniranta, K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Research Reviews* 2012, 11, 230- 241
54. Le Bourg, E. Hormesis, aging and longevity. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009; 1790, 1030-1039.

55. Hybertson, B.M.; Gao, B.; Bose, S.K.; McCord; J.M. Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular Aspects of Medicine* 2011; 32, 234–246
56. Dogan, S.A.; Trifunovic, A. Modelling Mitochondrial Dysfunction in Mice. *Physiol. Res.* 2011; 60 (Suppl. 1), S61-S70
57. Perez-Campo, R.; López-Torres, M.; Cadenas, S.; Rojas, C.; Barja, G. The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach. *J Comp Physiol B* 1998; 168, 149–158
58. Page, M.M.; Stuart J.A. Activities of DNA base excision repair enzymes in liver and brain correlate with body mass, but not with lifespan, *Age*, 2011; 34, 1195-209.
59. Barja, G. Free radicals and aging. *Trends in Neurosci* 2004; 27, 595-600
60. Cockcroft, J.R.; Pedersen, M.D. b-Blockade: Benefits Beyond Blood Pressure Reduction? *The Journal of Clinical Hypertension.* 2012; 14, 112-120
61. Bangalore, S.; Sawhney, S.; Messerli, F.H. Relation of beta-blocker-induced heart rate lowering and cardioprotection in hypertension. *J. Amer. College of Cardiol.* 2008; 52, 1482-1489.
62. Cucherat, M.; Borer, J.S. Reduction of Resting Heart Rate With Antianginal Drugs: Review and Meta-Analysis. *American Journal of Therapeutics* 2012; 19, 269–280
63. London, G.M.; Asmar, R.G.; O'Rourke, M.F.; Safar M.E. Mechanism(s) of Selective Systolic Blood Pressure Reduction After a Low-Dose Combination of Perindopril/Indapamide in Hypertensive Subjects: Comparison With Atenolol. *Journal of the American College of Cardiology.* 2004, 43, 92-99.

Estandarización de un modelo murino de malaria cerebral en fases clínicas para la evaluación de terapias antimaláricas y de rescate

Gabriela Martínez¹, María Linares^{1,2‡}, Patricia Marín-García^{1,2‡}, Susana Pérez-Benavente¹, Antonio Puyet^{1,2}, José M. Bautista^{1,2*} y Amalia Díez^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular IV; Universidad Complutense de Madrid; Ciudad Universitaria; 28040 Madrid, España. ²Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre, Madrid, España. [‡]Dirección actual: Diseases of the Developing World, GlaxoSmithKline, 28760 Tres Cantos, Madrid, España. [‡]Dirección actual: Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública & Inmunología y Microbiología médicas. Universidad Rey Juan Carlos, 28922 Alcorcón Madrid, España.
e-mail: jmbau@vet.ucm.es

Premio Real Academia Nacional de Farmacia del Concurso Científico de la Real Academia Nacional de Farmacia 2012. An. Real Acad. Farm. Vol 79, Nº 2 (2013), pag. 274-292

RESUMEN

Entre las enfermedades infecciosas más devastadoras del SNC se incluye la MC, debido a la alta mortalidad y las graves secuelas que ocasiona. Actualmente, no existe tratamiento farmacológico específico, ni de rescate de lesiones neurocognitivas residuales, y su desarrollo está limitado por la inexistencia de modelos experimentales bien definidos. En este trabajo se caracterizó fenotípicamente la infección en un modelo murino de MC evaluando parámetros clínicos que permitieron establecer cuatro estadios de la enfermedad. Este protocolo proporciona el marco experimental adecuado para estudiar terapias coadyuvantes neuroprotectoras que puedan prevenir y/o eliminar las secuelas neurológicas presentes en los individuos que sobreviven.

Palabras clave: Malaria Cerebral; Artesunato; *Plasmodium berghei* ANKA.

ABSTRACT

Standardization of a cerebral malaria murine model in clinical stages for antimalarial and rescue therapies evaluation

Cerebral malaria (CM) is included among the more devastating SNC infectious diseases due to its high mortality and severe sequelae in children. Currently, no specific pharmacological treatment for CM or rescue therapy for neurocognitive

residual injury are available, and research on this topic has been hampered due to the lack of well-defined experimental models. In the present study we have characterized the CM murine infection phenotypically, evaluating clinical parameters, which allowed establishing a model encompassing four distinct disease stages. This protocol provides the experimental framework to study adjunctive neuroprotective therapies that may prevent and/or eliminate the neurological sequelae in individuals surviving CM.

Keywords: Cerebral Malaria; Artesunate; *Plasmodium berghei* ANKA.

1. INTRODUCCIÓN

La malaria es la infección parasitaria más importante en el mundo por su elevada tasa de morbilidad, mortalidad e impacto socioeconómico que ocasiona en la población humana (1). Cada año se diagnostican alrededor de 200 a 300 millones de nuevos casos de malaria, de los cuales se calcula que aproximadamente 600.000 mueren a consecuencia de la infección y más del 90% de ellos ocurren en África (2).

Los síntomas clínicos de la enfermedad difieren desde la manifestación única de cuadros febriles leves (malaria no complicada) hasta la aparición de una malaria severa, que puede llegar a ser letal (3). La mayoría de los casos de malaria severa, y de las muertes asociadas a ella, se producen debido al paludismo ocasionado por *P. falciparum*, especie responsable de la forma más grave de malaria humana. La malaria grave es un trastorno multisistémico que afecta a varios tejidos y órganos, aunque sus manifestaciones clínicas más marcadas implican generalmente a un solo órgano, como es el caso del cerebro en la malaria cerebral (4). La malaria cerebral (MC) es una de las complicaciones más frecuentes y serias de todas las que ocurren, cursa con alteraciones neurológicas diversas, asociándose con la aparición de delirio y progresión al coma que desemboca en la muerte del paciente en un período relativamente corto de tiempo si no se administra atención médica adecuada (3, 5, 6). Incluso con el tratamiento correcto, la tasa de letalidad entre los niños con malaria cerebral se aproxima a 20% (7). Esta forma severa con rasgos de encefalopatía difusa aguda hace de la malaria por *P. falciparum* la infección parasitaria con mayor importancia del SNC afectando principalmente a niños de dos a cinco años, mujeres embarazadas y turistas que visitan zonas de alto riesgo, aunque las manifestaciones clínicas en niños y adultos son distintas (8, 9).

Aunque la malaria cerebral puede llegar a ser fatal en un 15-30% de los casos que la padecen, es potencialmente reversible y generalmente los pacientes que sobreviven a la enfermedad sufren una recuperación completa de las deficiencias físicas y neurológicas observadas, restableciendo la consciencia tras

2-3 días de tratamiento antimalárico (9, 10). Sin embargo, se ha visto que a pesar de la eficacia en la terapia antimalárica, algunos individuos que sobreviven a la MC mantienen graves secuelas neurológicas a largo plazo (11-13). Dichas secuelas pueden llegar a ser fatales pocos meses después de haber superado la enfermedad (14, 15).

La variabilidad individual en los síntomas que cursan los pacientes con malaria cerebral refleja que, a pesar de utilizar criterios médicos estandarizados para su diagnóstico, es un síndrome clínico heterogéneo (16). La irritabilidad, inquietud o comportamiento psicótico pueden ser los primeros signos de compromiso cerebral (17). Posteriormente pueden observarse convulsiones, incremento del tono muscular, hiperreflexia, clonus, rigidez, postura extensora, reflejos de extensión plantar, movimientos oculares y cambios en la pupila, mirada divergente, pérdida de la conciencia y coma (7, 8, 18, 19). Por último, la aparición de acidosis metabólica causada por una insuficiencia renal aguda, por acidosis láctica o por ambas; así como hipoglucemia, anemia, ictericia, acidosis respiratoria y edema pulmonar (8, 9, 13, 18, 20) son también rasgos colaterales que se asocian a esta afección grave de malaria.

De todas las poblaciones con riesgo a sufrir MC los daños cognitivos a largo plazo son más habituales en niños del África subsahariana (11, 21), y entre ellos se incluyen déficits en las áreas de la memoria, atención y desórdenes del lenguaje, problemas de comportamiento, daños en la visión, audición y tacto, pero también epilepsia y disfunciones motoras, como ataxia y parálisis (11, 13, 15, 18, 21), siendo más graves en aquellos casos que han sufrido un coma profundo (11). Los daños neurológicos pueden manifestarse durante la fase de recuperación, o bien pueden desarrollarse más tarde (15). Muchas veces las secuelas menos graves se hacen más aparentes según el niño avanza en edad y, de hecho, el daño cognitivo parece agravarse en el tiempo (14, 15).

El tratamiento actual para la malaria severa y cerebral consiste en la administración inmediata, y a dosis elevadas, de antimaláricos por vía parenteral con el objetivo de disminuir rápidamente la parasitemia, evitando así la muerte del paciente. Los fármacos aprobados y actualmente disponibles para dicho tratamiento son los alcaloides de quinina (quinina y quinidina) y los derivados de la artemisina (artesanato, artemeter, artemotil) (22). No obstante, dentro de las recomendaciones terapéuticas establecidas por la WHO se dejan en un segundo plano la prevención de las secuelas o el recrudecimiento de la enfermedad, posiblemente debido al desconocimiento que aun existe sobre las causas del daño cognitivo a largo plazo y la falta de información o de estudios clínicos en relación a terapias que minimicen dicho daño (23, 24).

El estudio del progreso de la infección en humanos está fundamentalmente limitado a muestras post mórtem las cuales son de difícil adquisición. Esta

limitación hace de los modelos animales una herramienta necesaria en los estudios experimentales de la progresión de MC, los cuales aunque no reproducen en su totalidad las características patológicas expresadas en el hombre (9), permiten el análisis más detallado de los cambios ocurridos durante la infección cerebral (19, 25). El modelo experimental más aceptado en numerosos laboratorios para el estudio de la MC es el que utiliza la infección de ratones de la estirpe C57BL/6 con *P. berghei* ANKA (9, 26). Dicho modelo ha sido muy explotado para identificar los mecanismos implicados en la patogénesis de esta infección cerebral, sin embargo ha sido poco utilizado para evaluar la eficacia de posibles tratamientos farmacológicos específicos para malaria cerebral y en terapias de rescate que prevengan los daños cognitivos ocasionados (27-29). Esto es debido a las diferencias intrínsecas del propio modelo para manifestar los rasgos clínicos que se desarrollan comúnmente en la malaria cerebral humana, por lo que resulta difícil establecer estadios claros de evolución durante el avance de la patología, obstaculizando así la elaboración de protocolos de tratamiento efectivos y la evaluación clínica y bioquímica del individuo durante y después de la infección (9, 30).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Todos los experimentos fueron realizados en la Universidad Complutense de Madrid de acuerdo a las directrices del Consejo Internacional para Animales de Experimentación.

2. 1. Modelo animal e infección experimental

En todos los ensayos realizados en el presente trabajo se ha utilizado como modelo experimental de malaria cerebral la infección de ratones macho de la cepa C57BL/6 (Harlan Ibérica, Barcelona, España) de 4-5 semanas de edad con el parásito *Plasmodium berghei* (ANKA), el cual es capaz de inducir el desarrollo de malaria cerebral en los animales infectados en un tiempo de 7 a 14 días. En los grupos experimentales la infección se inicia mediante la inyección intraperitoneal de los ratones con 5×10^6 glóbulos rojos infectados con *P. berghei* (ANKA) procedentes de un ratón donante de la cepa BALB/c, ya que esta cepa desarrolla parasitemias sanguíneas más elevadas y permite reducir el número de animales donantes. A los ratones del grupo control no se les infecta y se les inyecta una dilución equivalente de eritrocitos sanos de la misma cepa de ratón BALB/c. Dado que diversos estudios sugieren que los parásitos son incapaces de producir suficiente ácido paraaminobenzoico (PABA) para sobrevivir tras la infección (31) se añadió, en el agua de bebida, PABA a una concentración del 0,05%.

2.2. Valoración clínica del desarrollo de malaria cerebral en el modelo murino

El progreso de la infección fue analizado diariamente en todos los ensayos *in vivo* mediante la determinación de los niveles de parasitemia en sangre periférica utilizando frotis sanguíneos, teñidos con la solución de Wright's (Merck) seguido del *contaje* al microscopio de los eritrocitos infectados. Las alteraciones neurológicas asociadas a MC fueron establecidas también diariamente mediante parámetros definidos por el protocolo SHIRPA de evaluación del comportamiento (32). Así, mediante la observación detallada de los animales, se valoró la presencia de erizamiento del pelo, temblor, baja respuesta a estímulos, parálisis, lateralización, desviación de la cabeza, vueltas sobre sí mismo, ataxia, elevación de las patas traseras y convulsiones. La capacidad de movimiento de los ratones fue analizada aplicándoles un test de frecuencia motora descrito previamente (32, 33). Además de los síntomas neurológicos, se determinó, en días alternos, la concentración de hemoglobina en sangre durante el progreso de la infección, usando el reactivo de Drabkin (34) (SIGMA-Aldrich).

2.3. Ensayo de permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE)

El análisis de la integridad de la BHE se realizó inyectando intraperitonealmente a los ratones 200µL de solución de Evans Blue (35) al 2% en solución salina. Una hora más tarde se sacrifican los animales mediante dislocación cervical y se les extrae el cerebro para observar, de acuerdo al grado de tinción azul del tejido cerebral, el posible daño en la permeabilidad de la barrera.

2.4. Tratamiento antimalárico con Artesunato en el modelo murino de malaria cerebral

La terapia con Artesunato en el modelo experimental de MC utilizado se llevó a cabo administrando 5 únicas dosis del fármaco bajo una pauta de orden diaria (OD). El tratamiento se inició en los ratones infectados cuando manifestaban signos y síntomas claros de una malaria cerebral estándar (EMC) y en los ratones que no desarrollaban MC, cuando estos presentaran síntomas graves de decaimiento general, con ciertas similitudes al momento elegido en los animales con EMC, pero en ausencia de síntomas de deterioro neurológico. A todos los animales seleccionados se les administró una dosis de 32mg artesunato/kg de peso disuelto en bicarbonato de sodio al 5% (grupo Artesunato). Los grupos control del tratamiento para cada fenotipo de la enfermedad recibieron solución de bicarbonato de sodio al 5% siguiendo la misma pauta de administración (vehículo) (Figura 1).

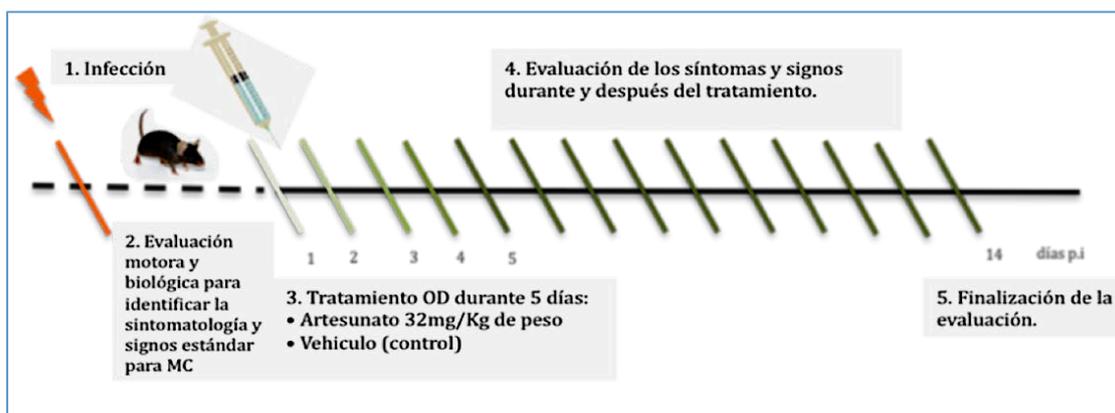


Figura 1.- Esquema del tratamiento antimalárico con Artesunato.

La eficacia de la terapia farmacológica administrada se determinó mediante la valoración del curso y/o reversión de la enfermedad tras el tratamiento en los distintos grupos de animales, utilizando los test y métodos mencionados en la estandarización del modelo.

3. RESULTADOS

3.1. Caracterización clínica del modelo murino de malaria cerebral

Las investigaciones sobre el curso de la infección malarica cerebral no es posible llevarlas a cabo en humanos por lo que, a pesar de sus imperfecciones, se hace necesario el uso de modelos animales. Aunque el modelo murino de ratones C57BL/6 infectados con *Plasmodium berghei* ANKA tiene limitaciones, es el que actualmente presenta mayores similitudes con la patología humana (9, 26).

El estudio detallado del progreso de la infección mediante cuantificación de la parasitemia y pruebas neurológicas llevado a cabo en este trabajo puso de manifiesto la heterogeneidad del modelo al momento de expresar o no síntomas neurocognitivos y motores asociados a MC. Debido a esta heterogeneidad fenotípica observada durante el curso de la enfermedad, clasificamos a los animales en dos grandes grupos, según las diferencias en los valores de parasitemia, expresión de síntomas neurológicos y curso de la enfermedad. En el grupo de malaria cerebral estándar (EMC), quedaron incluidos los animales infectados que expresaban un fenotipo clínico propio de malaria cerebral, caracterizado por el deterioro neurológico progresivo en ausencia de elevadas parasitemias. Aquellos ratones que desarrollaron parasitemias más altas a las obtenidas por EMC, con ausencia de daño neurológico y otros parámetros asociados a la patología cerebral, se incluyeron en el grupo de ratones sin malaria cerebral (SMC).

Los ratones del grupo que desarrollaron EMC mostraron cambios clínicos progresivos, que comenzaron con la expresión de síntomas tempranos de infección

malárica seguida de signos claros de daño neurológico que iban aumentando en severidad según progresaba la infección (Figura 2).

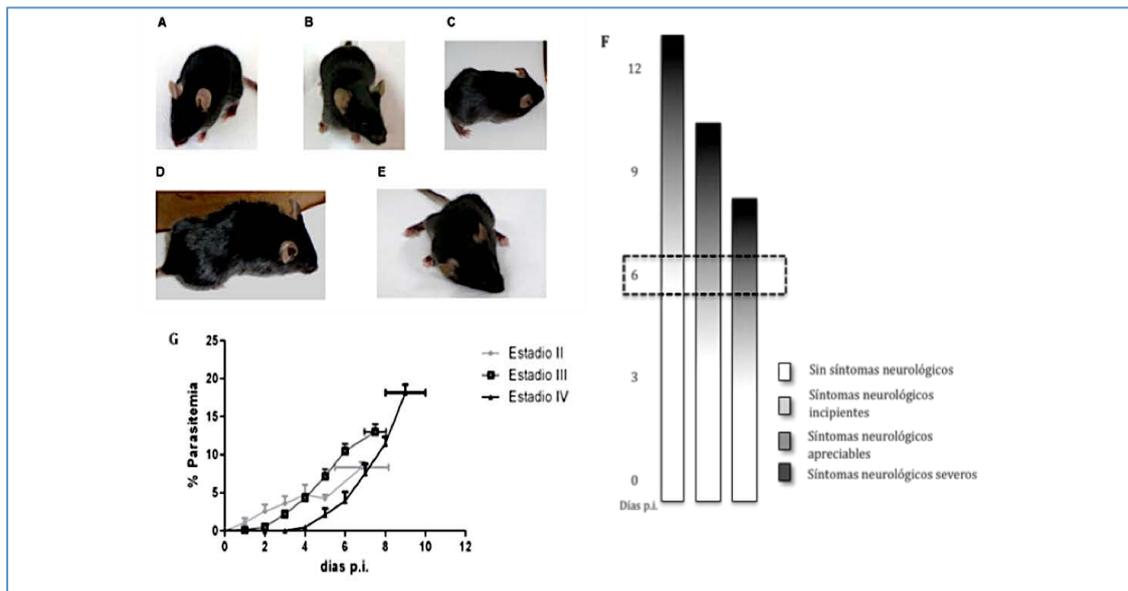


Figura 2.- Identificación de estadios neurológicos en la MC. **A**, controles. **B**, ratones sin síntomas neurológicos. Estadio I. **C**, Ratón con síntomas neurológicos incipientes propios del Estadio II (Lateralización o hemi-parálisis), **D**, Síntomas anteriores remarcados en el Estadio III. **E**, Los síntomas neurológicos empeoran en el Estadio IV con inclusión de parálisis severa. **F**, Heterogeneidad en la progresión de la MC observada en 3 ratones (barras horizontales) dentro de un mismo grupo experimental. La barra vertical representa la heterogeneidad del estado general del ratón en el tiempo específicamente en el día 6 post-infección. **G**, % de parasitemia promedio durante cada estadio y el tiempo (días p.i.) promedio de expresión en el curso de la infección.

Por ello, en los animales con EMC definimos 4 estadios de gravedad atendiendo a su fenotipo neurológico (video 1). En el estadio I, que coincide con los primeros días de infección, los animales se comportaron como los del grupo control, no manifestaron síntomas neurológicos, aunque con parasitemias entre el 1-2% (Figura 2B), por lo que se definió como asintomático. En el estadio II (Figura 2C) los ratones presentaron síntomas incipientes propios de MC como desviación de la cabeza o hemiparálisis. En este momento, algunos animales del grupo también expresaron erizamiento del pelo, temblor y giros sobre sí mismos. Los niveles de parasitemia aumentaron, alcanzando valores entre un 8-10% (Figura 2G), y la frecuencia motora disminuyó progresivamente (Figura 3B1). A partir del estadio II, los síntomas neurológicos se agravaron rápida y progresivamente dando lugar a la aparición de los estadios III y IV. En el estadio III las manifestaciones de daño neurológico (Figura 2D) son más evidentes (desviación de la cabeza, hemiparálisis/parálisis, elevación pélvica, temblor y disminución notable de la frecuencia motora) (Tabla 1) y la parasitemia alcanzó valores entre un 10 a un 15% (Figura 2G). Finalmente, en el estadio IV se observaron los síntomas más severos y evidentes de la MC (Figura 2E), incluyendo grave desviación de la cabeza,

hemiparálisis/parálisis aguda, temblor intenso con total erizamiento del pelo, poca o nula respuesta a estímulos, frecuencia motora sin actividad y presencia de convulsiones que pueden conducir a un estado comatoso y la muerte del animal (Tabla 1). Durante los últimos instantes del estadio III y en el transcurso del IV se observaron en algunos animales signos comunes de retinopatía, otro de los parámetros de diagnóstico asociados a MC. En esta última etapa la parasitemia alcanzó valores máximos de hasta un 18% (Figura 2G).

Tabla 1.- Síntomas y signos clínicos observados durante el progreso de la infección en ratones con EMC y sin MC. Se muestran los síntomas no neurológicos expresados en los diferentes estadios de EMC y en ratones sin MC como: √ presencia o × Ausencia, y los síntomas neurológicos manifestados en MC por severidad (I: Incipiente, A: Apreciable y S: Severo), junto a los porcentajes de los ratones que expresaron dichos síntomas. no: sin manifestación.

Signos - Síntomas	Ratones con ECM				Ratones sin MC
	Estadio I	Estadio II	Estadio III	Estadio IV	PLAP/PRAP
Parasitemia	√	√	√	√	√
Erizamiento del pelo	×	√	√	√	√
Disminución de la frecuencia motora	√	√	√	√	√
Elevación pélvica	×	×	√	√	√
Temblor	×	×	√	√	√
Anemia	×	×	×	×	√
Desviación de la cabeza	no	1/20%	1/35%-A/65%	A/77%-S/33%	no
Parálisis	no	1/45%	A/83%	S/100	no
Convulsiones	no	0%	34%	63%	no
Coma	no	0%	0%	<50%	no

Cabe destacar que las manifestaciones clínicas individuales observadas durante el progreso de la malaria cerebral no se presentaron al mismo tiempo en todo los animales del grupo experimental (Figura 2F). Los síntomas de infección por *Plasmodium* suelen aparecer a los pocos días post-infección (2-5 d.p.i), mientras que los primeros síntomas asociados a MC (estadio II) suelen aparecer entre 12 y 24 h. después. Por ello, y considerando que la sintomatología neurológica del estadio II es leve, el diagnóstico de la MC puede establecerse, inequívocamente, cuando los animales han alcanzado el estadio III, el cual aparece transcurridas de 6 a 24 h. desde el estadio anterior. La progresión de la infección por MC condiciona una supervivencia que no supera los 12 días post-infección.

Durante el desarrollo de la infección también se observaron animales que presentaban niveles de parasitemia y tiempos de supervivencia muy diferentes a los expresados por los animales del grupo EMC, por lo que se clasificaron como

animales que se infectan por *Plasmodium* pero no desarrollan malaria cerebral, mostrando un fenotipo clínico diferente (SMC). Un 55% de los ratones del grupo SMC mostraron una progresión de la infección lenta y valores altos de parasitemia (PLAP). Estos animales presentaron porcentajes de parasitemia inicialmente bajos ($\approx 10\%$ hasta el día 10 p.i.), similares a los que cursan con MC, pero que aumentan significativamente llegando a alcanzar niveles muy superiores ($\approx 60\%$) a los descritos para MC estándar (Figura 3A2). En este grupo el desarrollo de la infección resultó mucho más lento por lo que el periodo total p.i. fue más amplio y los animales fallecen 15 días después de ser infectados. El resto de los ratones incluidos en el grupo SMC fueron definidos como grupo PRAP (45%) porque presentaban una progresión de la infección mucho más rápida que los anteriores, alcanzando valores de hiperparasitemia ($>40\%$) antes de los 4 días p.i. (Figura 3A3), lo que produjo su muerte en la primera semana p.i.

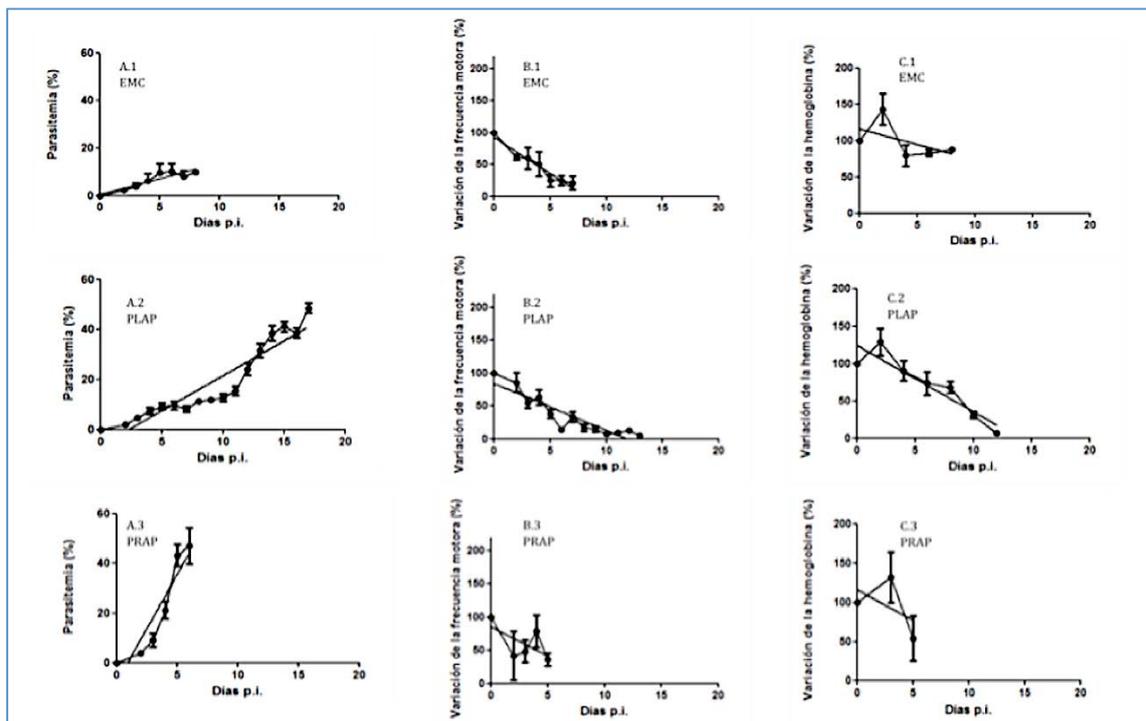


Figura 3.- Diferencias biológicas, motoras y hematológicas entre los distintos grupos experimentales (1. EMC, 2. PLAP y 3. PRAP) durante la caracterización del modelo experimental: (A) Parasitemia (%) (B) Frecuencia motora (%) y (C) Hemoglobina (%). El valor de parasitemia (%) está representado como el promedio de los valores diarios de cada ratón \pm SEM. La variación de la frecuencia motora del animal se expresa en % y representa el promedio de la diferencia que se obtiene para cada ratón con respecto al valor inicial (100%) \pm SEM. La concentración de hemoglobina se expresa en % y representa la media de los valores obtenidos para cada ratón en mg/ml y su diferencia con respecto al valor inicial (100%) \pm SEM.

3.2. Concentración de hemoglobina en sangre

La concentración de hemoglobina en sangre de los ratones infectados se determinó a lo largo del ensayo en días alternos. Los resultados obtenidos durante la infección (Figura 3C) mostraron que existe una relación entre los datos de

hemoglobina y el tipo de progresión e infección que cursa el ratón. Así, los ratones del grupo con EMC presentaron valores de hemoglobina (Hb) prácticamente constantes durante el proceso infectivo (Figura 3C1), mientras que en aquellos que no desarrollaron la infección cerebral, PLAP y PRAP, (Figura 3C2 y C3) la concentración de Hb disminuyó al 50% en la primera semana p.i., debido, posiblemente, a la anemia que sufren como consecuencia de la hiperparasitemia que alcanzan estos dos grupos.

3.3. Permeabilidad de la barrera hematoencefálica (prueba del Evan's Blue)

El cambio de la permeabilidad de la BHE secundario al secuestro de la microvasculatura (18, 36, 37) explica el edema cerebral que frecuentemente acompaña a la malaria cerebral. Con el fin de evaluar si las anomalías en la BHE se asocian a la evolución clínica de la patología cerebral procedimos a valorar la integridad de la misma en el modelo murino clasificado por estadios, utilizando el test de coloración con la solución de "Evan's Blue". Como se muestra en la figura 4A, el tejido cerebral extraído de los ratones del grupo MC adquirió la coloración azul propia de la tinción utilizada indicativa del daño en la función de la barrera hematoencefálica. La alteración en la BHE aumentó a medida que progresaba la patología cerebral. En la figura 4 se observa que, en el primer estadio, asintomático, la BHE está aún funcional, siendo impermeable a la entrada de la solución de tinción, pero dicha permeabilidad cambia según progresa el cuadro clínico neurológico, detectándose ya en el estadio II entrada del colorante al tejido cerebral, lo que se relaciona con el inicio de los síntomas de la MC. La ruptura más severa en la BHE se detectó en el estadio IV, donde el cerebro adquirió una intensa coloración azul, siendo ese momento cuando los animales manifestaron los síntomas más graves de MC como convulsiones o el coma. En la misma figura se muestran cuatro cerebros que fueron extraídos de los animales pertenecientes a los otros dos grupos de infección caracterizados, dos del grupo PLAP (Figura 4C) y dos del grupo PRAP (Figura 4B), y tratados de la misma forma con la solución de Evan's Blue. Como se puede observar en las imágenes, en ninguno de estos casos aparecen evidencias de ruptura de la BHE, ya que no hay acumulación de coloración azul en el parénquima cerebral, comportándose igual que la muestra del control sano. El cerebro de los animales del grupo PLAP, fue extraído entre el día 10 y 12 p.i., y en el grupo PRAP las muestras se tomaron en el día 6 p.i., cuando presentaban altos niveles de parasitemia, síntomas de decaimiento general y anemia severa.

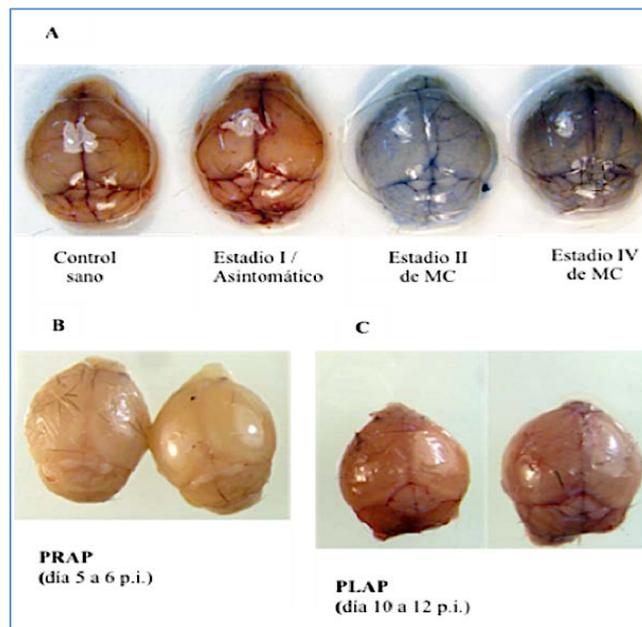


Figura 4.- Fotografías de cerebros murinos tratado con la solución Evan's Blue. A. Cerebros tomados en los diferentes estadios observados en el transcurso estándar de la Malaria Cerebral. **Estadio I** o sin MC: ratón sin síntomas neurológicos evidentes. **Estadio II:** ratón con síntomas neurológicos incipientes. **Estadio IV:** Ratón con síntomas graves de MC (Coma). B. Cerebros del grupo PRAP, extraídos entre el día 10-12 p.i. C. Cerebros del grupo PLAP, extraídos entre el día 5-6 p.i.

3.4. Efecto del tratamiento con Artesunato sobre el curso de la malaria cerebral en el modelo de fases clínicas

Para comprobar la eficacia del modelo de malaria cerebral clasificado en estadios de afectación, en estudios de terapia antimalárica y adyuvante, se evaluó el efecto del artesunato, droga de elección en el tratamiento de la malaria severa, administrado en monoterapia según las pautas y dosis detalladas en el apartado 3.4 de materiales y métodos. El tratamiento de los ratones que sufren EMC se inició en el estadio III, cuando se establecía un diagnóstico inequívoco de MC mediante la evaluación de sus capacidades neurológicas utilizando distintos test y determinaciones biológicas-hematológicas previamente seleccionados durante la caracterización clínica del modelo. De esta forma, el tratamiento farmacológico se dirige específicamente a la infección cerebral. Una vez iniciada la administración del fármaco se ensayaron los mismos parámetros utilizados para definir los estados clínicos del modelo y valorar así la eficacia del tratamiento durante el curso de la infección.

Con el fin de evaluar también el efecto de la misma terapia con artesunato en aquellos animales del grupo experimental que no desarrollaban MC, se extendió este estudio antimalárico a aquellos ratones que desarrollaron la infección, pero sin manifestar signos asociados a MC. Estos animales se trataron siguiendo la misma pauta terapéutica que la descrita para el grupo anterior. En este caso, y

dado que no podía elegirse el inicio del tratamiento según el estadio neurológico en que se encontraban los animales, este se comenzó en el momento en el que los ratones presentaron síntomas graves de decaimiento, similares a un estadio III en EMC, pero sin signos de afectación neurológica.

Un esquema del tratamiento aplicado y los resultados obtenidos se muestra en la figura 5. En el grupo de ratones que manifestó EMC la administración del fármaco consiguió detener el crecimiento del parásito y el proceso infeccioso, como demuestran los resultados de parasitemia alcanzados (Figura 6A2), con la recuperación temporal de los valores en los parámetros ensayados (Figura 6B2 y C2), lo que se tradujo en un aumento del tiempo de supervivencia de los animales hasta alcanzar 15 días p.i. Sin embargo, el efecto antimalárico del artesunato no fue suficiente para conseguir eliminar completamente los parásitos circulantes, ya que a partir del cuarto día de tratamiento, la parasitemia vuelve a incrementarse detectándose una clara recrudescencia de la infección (Figura 6A2) que provoca la muerte de los ratones debido a la anemia severa que sufren como consecuencia de los altos niveles de parásitos en sangre alcanzados.

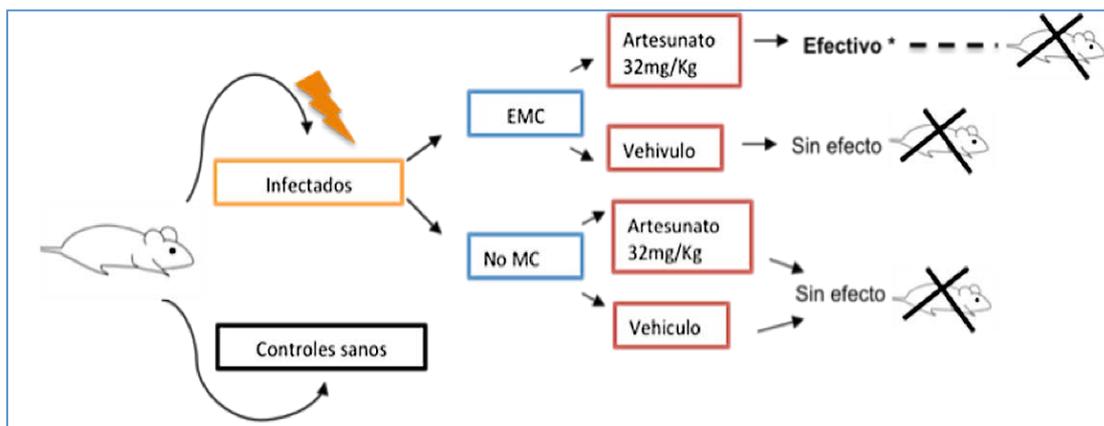


Figura 5.- Diseño del tratamiento antimalárico y sus efectos en el transcurso de la infección. Se indican los resultados del tratamiento con Artesunato sobre la supervivencia y rescate de ratones con MC y sin MC en el modelo descrito. **Sin efecto:** Muerte del animal. **Efectivo*:** inhibición parcial de la infección con posterior recrudescencia. ---- Aumento de la supervivencia.

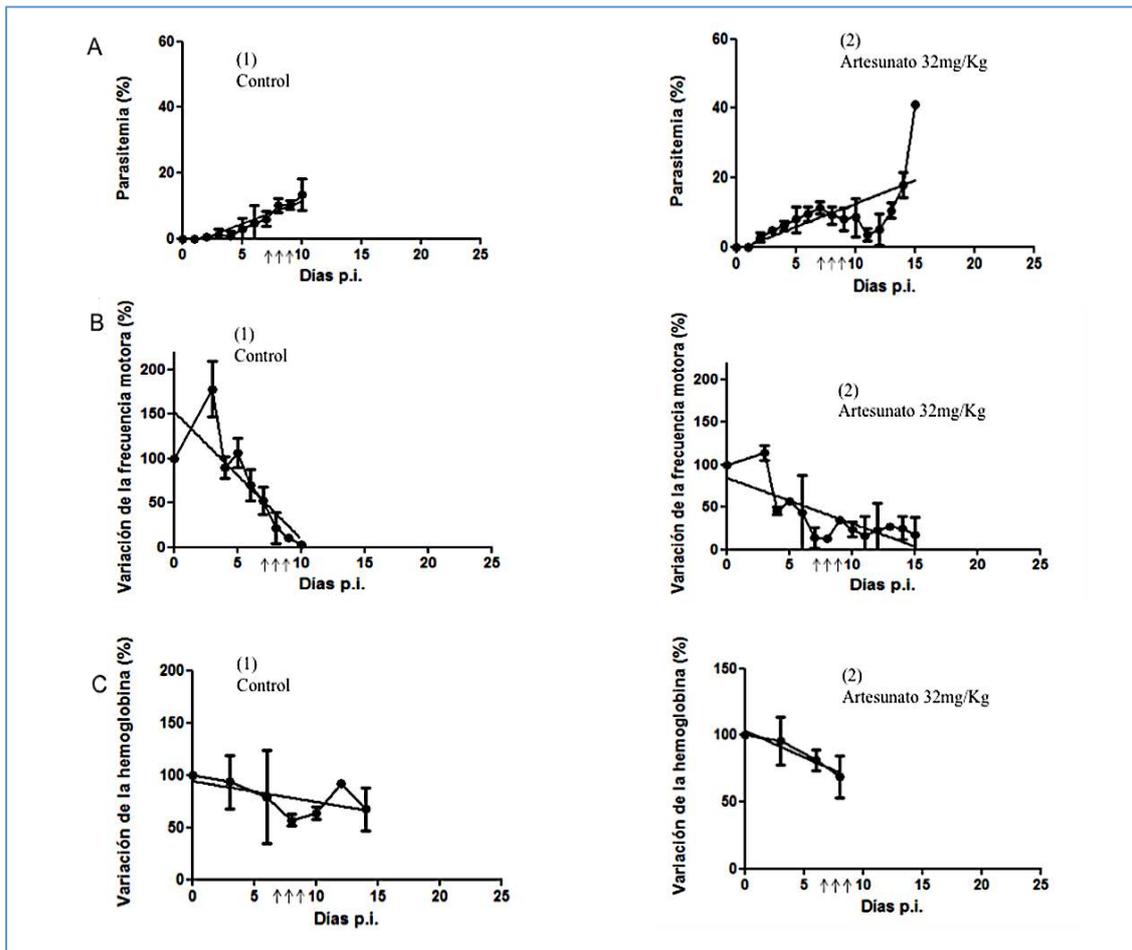


Figura 6.- Efecto del tratamiento con Artesunato sobre los parámetros biológicos, motores y hematológicos evaluados durante la infección con MC. El valor de la parasitemia (%) está representado como el promedio de los valores diarios por grupo \pm SEM. La variación de la frecuencia motora se expresa en %, representando el promedio de la diferencia en porcentaje que tiene cada ratón con respecto al valor inicial (100%) \pm SEM. Hemoglobina expresada en %, representada como el promedio de los valores de cada ratón en mg/ml y su diferencia en porcentaje con respecto al valor inicial (100%) \pm SEM. **A.** % Parasitemia para el grupo control y EMC. **B.** Variación de la frecuencia motora para el grupo control y EMC y **C.** Variación de hemoglobina para el grupo control y EMC. ↑↑↑ Días de inicio de tratamiento (7-9 p.i.).

En el caso de los ratones sin MC y tratados de la misma forma que los anteriores, la infección no se vio afectada en ningún punto por el fármaco y el 100% de los animales siguió la progresión de la misma, muriendo por anemia severa producto de los altos niveles de parasitemia adquiridos (Figura 7). Los ratones con EMC o sin MC tratados con bicarbonato al 5% no presentaron cambios durante el progreso de la infección, y murieron a causa de la MC o de anemia severa, respectivamente (Figura 6A1).

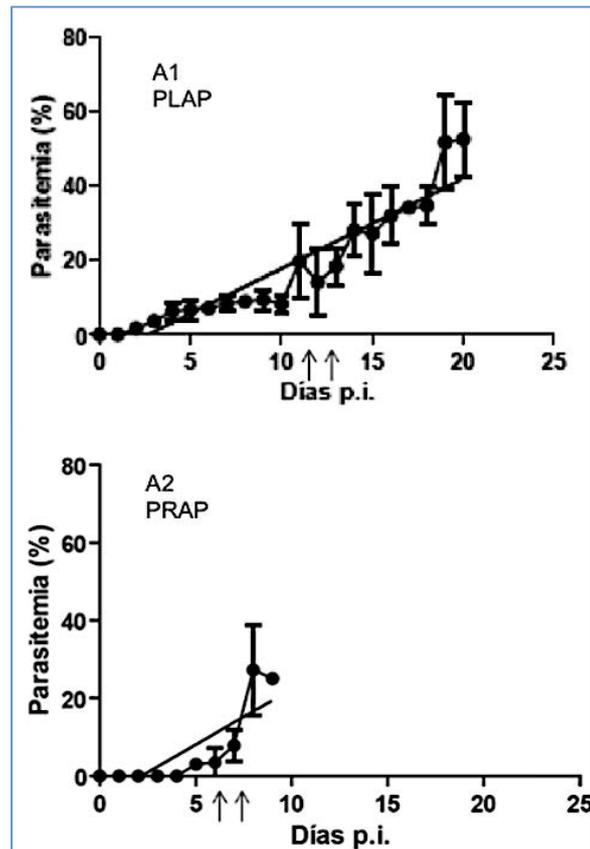


Figura 7.- Resultados del tratamiento con Artesunato en ratones infectados que no desarrollan MC (PLAP-PRAP). La parasitemia (%) representada como el promedio de los valores en % de cada ratón \pm SEM. **A1.** Parasitemia de ratones infectados con PLAP y tratados con Artesunato 32 mg/kg. Días del inicio de tratamiento (11-12 p.i.). **A2.** Parasitemia de ratones infectados con PRAP y tratados con Artesunato 32 mg/kg. Días del inicio de tratamiento (6-7 p.i.).

4. DISCUSIÓN

A pesar de la controversia que existe respecto a su validez, los modelos animales constituyen una herramienta imprescindible y extraordinariamente útil para el estudio del desarrollo de la malaria cerebral (26, 38), siendo los modelos murinos los de elección en la investigación experimental de la patología *in vivo*. Aunque existen diferencias entre la patología humana y murina, son muchos los estudios que destacan las numerosas similitudes que tiene la infección de ratones de la estirpe C57BL/6 con *P. berghei* ANKA con el desarrollo de la enfermedad en el hombre (25, 26). No obstante, este modelo, ampliamente utilizado para el estudio de la patología cerebral, ha sido poco explotado en ensayos de terapia antimalárica y de terapias adyuvantes que puedan ser neuroprotectoras y que contribuyan al rescate de las secuelas neurológicas. Ello es, posiblemente, debido a la complejidad que el modelo presenta en relación a la heterogeneidad de síntomas y el tiempo de expresión de los mismos, y a que aún no se conocen por completo las secuencias de eventos clínicos y moleculares que acontecen en el hospedador (26-28, 38). Al igual que sucede en pacientes que sufren MC (8, 16, 26, 36), esta heterogeneidad

entre individuos durante el transcurso de la infección representa un problema para el diagnóstico de la enfermedad, dificultando enormemente la administración de una terapia específica y eficaz para la infección cerebral, que conduce en muchas ocasiones a un daño cerebral irreversible o la muerte del paciente (8, 9, 22).

La mayoría de los estudios sobre MC llevados a cabo con este modelo definen la severidad de la enfermedad y sus manifestaciones en términos de días post-infección (19, 26). Sin embargo, debido a la diferencia temporal que presentan los animales en la aparición de los primeros síntomas y en el propio progreso de la infección, unido a que no todos los ratones infectados desarrollan la infección cerebral, parece más indicado clasificar a los animales de acuerdo a las manifestaciones fenotípicas neurológicas que van adquiriendo. Utilizando este último criterio, esta investigación pone de manifiesto la ventaja de agrupar los eventos neurológicos que suceden en la MC en estadios (I-IV), cada uno de ellos con cambios y expresión de síntomas y signos regulares, mediante la evaluación constante de funciones neurocognitivas, biológicas y motoras del animal, estandarizando así un protocolo analítico que, además, permita la identificación precisa de los individuos que desarrollan la infección cerebral de aquellos que no lo hacen.

Varios de los síntomas asociados a MC descritos por otros autores (19, 26) fueron observados en los animales de nuestro ensayo con EMC; sin embargo, el momento de expresarlos fue distinto en cada individuo. Los signos incipientes aparecieron en el día 6-7 p.i., mientras que los síntomas más graves se observaron entre las 6-30 h posteriores.

Junto a estos animales se identificaron y caracterizaron ratones que desarrollaban una infección malárica pero sin las características de la patología cerebral, los cuales presentaban a su vez progresiones de infección distintas y con parasitemias que podían llegar al 70%. Esta heterogeneidad también es propia de la MC humana, donde solo entre el 2 y el 5% de los niños infectados desarrollan la forma cerebral (13, 15, 18). Esta nueva caracterización del modelo murino permite disminuir la variabilidad fenotípica, producto de la heterogeneidad en la experimentación, y pone de manifiesto la necesidad de establecer un buen diagnóstico de MC después de la infección que facilite la evaluación de tratamientos farmacológicos que puedan generar resultados más confiables y precisos.

El artesunato es actualmente la droga más potente, aprobada y establecida para ser la primera opción de tratamiento en adultos y niños con malaria severa producida *P. falciparum*. Se ha demostrado que el artesunato es capaz de inhibir tanto las formas maduras como las jóvenes del parásito y de ahí su versatilidad (22, 39). Su acción antiplasmódica sobre *P. berghei* ANKA también ha sido descrita

(40) y recientemente se ha visto un posible efecto de rescate sobre secuelas neurológicas en ratones que se recuperan de la MC (27). Por todo ello, en este trabajo se evaluó la capacidad antimalárica del artesunato utilizando nuestro modelo de MC organizado en estadios de afectación para seleccionar el comienzo del tratamiento de forma que se dirigiera específicamente a los animales con malaria cerebral. Así, la administración del fármaco se inició exclusivamente en los ratones que estaban en el estadio III de EMC, manifestando claramente los síntomas y signos propios de infección cerebral. Los resultados demostraron la capacidad antimalárica del artesunato, logrando detener el progreso infección y sus síntomas desde la primera dosis del tratamiento. Sin embargo, este efecto fue solo temporal, apareciendo un cuadro grave de recrudescencia de la infección 4 días después de iniciado el tratamiento. Resultados similares fueron obtenidos previamente por otros autores (Gumede y col. 2003, Clemmer y col.) que demostraron que el artesunato administrado oral e intraperitonealmente en el mismo modelo experimental murino inhibe el crecimiento de *P. berghei* ANKA, pero induce una gran recrudescencia de la infección (27, 40). Cabe destacar que el inicio de la terapia en dicho estudio se realizó en todos los animales a la vez, seleccionado el día post infección y no de acuerdo a la manifestación clínica de la enfermedad. De esta forma su tratamiento se aplica en el día 6 p.i, cuando los ratones expresaban síntomas muy leves a nivel motor. En cualquier caso, una terapia con artesunato en dosis más altas y en tiempo más prolongado podría ser suficiente para inhibir completamente la infección y evaluar el efecto de rescate en las secuelas residuales. Por otro lado, el tratamiento con el fármaco en aquellos ratones de nuestro ensayo que progresaron en la infección sin desarrollar MC no tuvo efecto antimálarico alguno, provocando la inevitable muerte del animal por anemia en pocos días. Es por tanto que esta nueva clasificación del progreso de la malaria cerebral en estadios agrupados, en función de la gravedad del cuadro neurológico de los individuos infectados, resulta esencial para llevar a cabo estudios que ayuden a elucidar los procesos patológicos y clínicos claves de la enfermedad humana, reduciendo al mínimo la variabilidad producida por la heterogeneidad en el desarrollo de la malaria experimental murina.

5. CONCLUSIONES

La nueva disección del modelo murino de malaria cerebral con *P. berghei* ANKA y ratones C57BL/6 mediante la evaluación combinada de parámetros biológicos, hematológicos y neurológicos permitirá abordar estudios farmacológicos de eficacia de terapias antimaláricas y de rescate de secuelas neurocognitivas y motoras de forma específica durante el transcurso de infección cerebral.

6. REFERENCIAS

1. Enayati, A. a. H., J., Malaria Management: Past, Present and Future, *The Annual Review of Entomology*, 55, 569 (2010).
2. WHO, World Malaria Report 2011. , Data, W. L. C.-i.-P., Ed., World Health Organization Switzerland (2011).
3. Miller, L., Baruch, D., Marsh, K. and Doumbo, O., The Pathogenic basis of malaria, *Nature*, 415, 673 (2002).
4. Hausmann, K., Hülsmann, N. and Radek, R. , *Protistology* (2003).
5. Schofield, L. a. G., G. , Immunological Processes in Malaria Pathogenesis, *Nature*, 5, 722 (2005).
6. Mackintosh, C., Beeson, J. and Marsh, K., Clinical Features and Pathogenesis of Severe Malaria, *TRENDS in Parasitology*, 20, 597 (2004).
7. Newton, C. a. K., S. , Severe Falciparum Malaria in Children: Current Understanding of Pathophysiology and Supportive Treatment., *Pharmacology and Therapeutics*, 79, 1 (1998).
8. Newton, C., Hien, T. and White, N., Cerebral Malaria, *Journal Neurology Neurosurg Psychiatry*, 69, 433 (2000).
9. Idro, R., Jenkins, N. and Newton C. , Pathogenesis, clinical features, and neurological outcome of cerebral malaria, *The Lancet. Neurology*, 4, 827 (2005).
10. Bentivoglio, M., Mariotti, R., Bertini, G. , Neuroinflammation and brain infections: Historical context and current perspectives. , *Brain Research Review*, 66, 152 (2010).
11. Bangirana, P., Idro, R., John, C., Boivin, M., Rehabilitation for cognitive impairments after cerebral malaria in African children: strategies and limitations, *Tropical Medicine and International Health*, 2, 1341 (2006).
12. Boivin, M., Bangirana, P., Byarugaba, J., Opoka, R., Idro, I., Jurek, A. and John, C. , Cognitive Impairment After Cerebral Malaria in Children: A prospective Study., *Pediatrics* 119, 360 (2006).
13. Idro, R., Kakooza, A., Balyejjussa, S., Mirembe, G., Mugasha, C., Tugumisirize, J. and Byarugaba, J., Severe neurological sequelae and behavior problems after cerebral malaria in Ugandan children *BioMed Central Research notes*, 3, 1 (2010).
14. Carter, J., Mung'ala, V., Neville, B., Murira, G., Mturi, N., Musumba, C. and Newton, C. , Persistent neurocognitive impairments associated with severe *falciparum* malaria in Kenyan children, *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 76, 476 (2005).
15. John, C., Bangirana, P., Byarugaba, J., Opoka, R., Idro, R., Jurek, A., Wu, B. and Boivin, M. , Cerebral Malaria in children is associated with Long-term cognitive impairment, *Pediatrics*, 122, 92 (2008).
16. Medana, I. a. T., G. , Human Cerebral Malaria and the Blood-brain Barrier, *International Journal for Parasitology*, 36, 555 (2006).
17. Mishra, S. a. W., L., Advances in the management of cerebral malaria in adults, *Current Opinion in Neurology*, 22, 302 (2009).
18. Idro, R., Marsh, K., John, C. and Newton, C., Cerebral Malaria; Mechanisms of Brain Injury and Strategies for Improved Neuro-Cognitive Outcome, *Pediatrics*, 56, 163 (2010).
19. Lackner, P., Beer, R., Heussler, V., Goebel, G., Rudzki, D., Helbok, R., Tannich, E. and Schmutzhard, E. , Behavioral and histopathological alterations in mice with cerebral malaria, *Neuropathol Appl Neurobiol*, 32, 177 (2006).
20. Zapata, C. T., S., Malaria Cerebral *IATREIA*, 16, 202 (2003).
21. Boivin, M., Effects of early cerebral malaria on cognitive ability in senegalese children *Pediatrics*, 23, 353 (2002).

22. WHO, Guidelines for the treatment of *P. falciparum* malaria in *WHO Library cataloguing-in-Publication Data*, Programme, G. M., Ed., World Health Organization Switzerland (2010).
23. Dondorp, A., Pathophysiology, clinical presentation and treatment of Cerebral Malaria, *Neurology Asia*, 10, 67 (2005).
24. Reis, P., Comim, C., Hermani, F., Silva, T., Barichello, T., Portella, A., Gomes, F., Sab, I., Frutuoso, V., Oliveira, M., Bozza, P., Pizzol, F., Zimmerman, G., Quevedo, J. and Neto, H., Cognitive Dysfunction is Sustained after Rescue Therapy in Experimental cerebral Malaria, and is Reduced by Additive Antioxidant Therapy., *PLOS pathogens* 6, 1 (2010).
25. Lou, J., Lucas, R. and Grau, G., Pathogenesis of Cerebral Malaria: Recent Experimental Data and Possible Applications for Humans, *Clinical Microbiology Reviews*, 14, 810 (2001).
26. De Souza, B., Hafalla, J., Riley, E., Couper, K., Cerebral Malaria: why experimental murine models are required to understand the pathogenesis of disease., *Parasitology*, 137, 755 (2009).
27. Clemmer L., M. Y., Zanini G., Frangos A., Carvalho L. , Artemether and artesunate show the highest efficacies in rescuing mice with late-stage cerebral malaria and rapidly decrease leukocyte accumulation in the brain., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55, 1383 (2011).
28. Bienvenu A., F. J., Kaiser K., Latour C., Picot S., Artesunate - Erythropoietin combination for murine cerebral malaria treatment., *Acta Tropica*, 106, 104 (2008).
29. Carvalho, L., Murine cerebral malaria: how far from human cerebral malaria? , *TRENDS in Parasitology*, 26, 271 (2010).
30. White, N., Turner, G., Medana, I., Dondorp, and A Day, N. , The murine cerebral malaria phenomenon, *TRENDS in Parasitology*, 26 (2009).
31. Kicska, G. A., T. Li-Min, V. L. Shramm, and K. Kim., Effect of dietary p-aminobenzoic acid on murine *Plasmodium yoelii* infection. , *The Journal of Infectious Diseases*, 188, 4680 (2003).
32. Calderon, J., Bolaños, R., Carrillo, J., Escamilla, C., Salazar, S., Moreno, G. and Rivera, G., Behavioral analysis of the Reserpine induced motor changes in a Parkinsonian mouse model. , *Neuropsicología, Neuropsiquiatría y Neurociencias*, 11, 49 (2011).
33. Tadaiesky M., A. R., Vital M. , Different effects of 7-nitroindazole in reserpine- induced hypolocomotion in two strains of mice. , *European Journal of Pharmacology*, 535, 199 (2006).
34. Lambertsen, C. J. B., PL. Drabkin, DL, Schimidt, C., Relationship of oxygen tension to hemoglobin oxygen saturation in the arterial blood of normal men, *Journal Applied Physiology*, 1952, 873 (1952).
35. Kozler, P. a. P., J., Altered Blood-Brain Barried Permeability and Its Effect on the Distribution of Evans Blue and Sodium Fluoresce in the Rat Brain Applied by Intracarotid Injection *Physiological Research* 52, 607 (2003).
36. Van der Heyde, H. N., J. Combes, V. Gramaglia, I. Grau, GE., A unified hypothesis for the genesis of cerebral malaria: sequestration, inflammation and hemostasis leading to microcirculatory dysfunction. , *TRENDS in Parasitology*, 22, 503 (2006).
37. Pongponratin, E., Turner, G., Day, N., Phu, N., Simpson, J., Stepniewska, K., Mai, N., Vejakul, P., Looreesuan, S., Hien, T., Ferguson, D. and White, N. , An Ultrastructural Study of the Brain in Fatal *Plasmodium Falciparum* Malaria, *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 69, 345 (2003).
38. Combes, V., De Souza, B., Rénia, L., Hunt, N. and Grau, G. , Cerebral Malaria: Which parasite? which model? , *Progress in Neurobiology*, 91, 140 (2006).
39. AQUAMAT, G., Artesunate versus Quinine in the treatment of severe *falciparum* malaria in African children (AQUAMAT): an open-label, randomized trial. , *The Lancet*, 376, 1647 (2010).

40. Gumedde, B. F., P. Ryffel, B., Oral artesunate prevents *Plasmodium berguei* Anka infection in mice, *Parasitology International* 52, 53 (2003).

Financiación de medicamentos: Los aspectos jurídicos

Rosa Basante Pol¹ y Carlos del Castillo Rodríguez²

¹Académica de número de la Real Academia Nacional de Farmacia. ²Profesor Ayudante Doctor de la Universidad Complutense de Madrid, Spain.

e-mail: rbasante@farm.ucm.es

Mesa redonda "Financiación de medicamentos: aspectos jurídico, social y ético". Sesión científica celebrada el 16 de mayo de 2013. An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 293-307

RESUMEN

El derecho a la protección de la salud impulsa al poder ejecutivo a establecer una política sanitaria conducente, dentro de los principios de equidad, calidad y participación ciudadana, a la promoción del uso racional del medicamento y a adoptar medidas dirigidas a que la prestación farmacéutica, por el Sistema Nacional de Salud, se realice a precios razonables y con un gasto público ajustado, dentro de la necesidad de optimizar los recursos disponibles. En la actualidad el Estado de Bienestar alcanzado en nuestro país se hace cada día mas gravoso, de aquí que para garantizar la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud el Estado español haya promovido una reforma sanitaria a través de normas, entre otras, el Real Decreto Ley 16/ 2012 del cual analizamos el impacto y consecuencias mas destacables en el sector farmacéutico.

ABSTRACT

The right to health protection encourages the Executive to establish a leading health policy according to the principles of equity, quality and citizen participation, to promote a responsible use of drugs and to adopt measures in order to make the provision of pharmaceutical care affordable and with reasonable public health expenditure by the Spanish National Health System as part of the need of optimizing the available resources. Nowadays, the welfare state achieved in our country is progressively more expensive. Hence, in order to guarantee the sustainability of the Spanish National Health System, the Spanish government has promoted a health reform through standards, among others the Royal Decree-Law 16/ 2012, of April 20, 2012. From this Royal Decree-Law we analyze the impact and the most noteworthy consequences in the pharmaceutical sector.

Dicen unos versos del filósofo y humanista francés F. Rabelais: (ca. 1494-1553)

¡Oh salud, salud!

¡Bendición del rico, riqueza del, pobre!

¿Quién podría encontrar demasiado caro

El precio por comprarte?

En general todos deseamos tener salud, pero tal vez, entendemos, habría que hablar de su dimensión social y no solo entendida como ausencia de enfermedad, es decir salud sinónimo de bienestar. Posiblemente nada haya contribuido tanto al bienestar de la Humanidad como los medicamentos, y no es menos cierto que en la cultura social europea actual, damos por hecho que el acceso a los medicamentos, en especial a los innovadores, ha de ser inmediato, y no siempre reflexionamos en el coste que ello supone y los recursos económicos necesarios para la prestación de este servicio.

España se constituye en un Estado social y democrático de Derecho que propugna como valores superiores de su ordenamiento jurídico la libertad, la igualdad y el pluralismo político, dispone el artículo 1 de nuestra vigente Constitución¹, lo que supone la exigible actuación del Gobierno y de la administración para corregir las desigualdades existentes en la sociedad.

El artículo 43.1 de la carta magna reconoce el derecho a la protección de la salud, es decir no se nos garantiza la salud, obviamente, sino el derecho a su protección atribuyendo a los poderes públicos las competencia de tutela y organización de la Salud Pública (artículo 43.2), reconociendo, artículo 149.16, entre las competencias exclusivas del Estado la legislación sobre productos farmacéuticos.

El derecho a la protección de la salud, recogido además de en la vigente Constitución Española, en los tratados internacionales es la piedra angular de la legislación sanitaria e impulsa a los distintos gobiernos a establecer una política sanitaria conducente, dentro de los principios de equidad, calidad y participación ciudadana, a la promoción del uso racional del medicamento.

Tal vez uno de los logros de nuestro Estado del Bienestar sea la creación del Sistema Nacional de Salud (SNS), entendido éste como el conjunto coordinado de los servicios de salud tanto de las Comunidades Autónomas como de la

¹ España. Constitución española de 1978. *Boletín Oficial del Estado*, 29 de diciembre de 1978, núm. 311.1.

administración, que permite una asistencia sanitaria pública, universal, gratuita, y de máxima calidad financiada, además, con fondos públicos porque los ciudadanos lo que desean son medicamentos seguros, eficaces, y de calidad, legales, es decir autorizada su comercialización y su posterior inscripción en el Registro farmacéutico por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), o por la Agencia Europea (EMA), sin dificultad alguna de acceso al paciente y que sean financiados por el SNS.

En consecuencia parece lógico que el Estado español adopte, sin que ello suponga merma alguna del bienestar social, medidas dirigidas a que la prestación de medicamentos por el SNS se realice a precios razonables y con un gasto público ajustado, dentro de la necesidad de optimizar los recursos disponibles.

Todo ello se posibilita mediante la financiación pública selectiva y no indiscriminada, basada en el binomio coste/efectividad. Por ello, la financiación pública de los medicamentos supone la intervención del Estado, tanto en las decisiones de inclusión o exclusión de medicamentos financiados a cargo del Sistema Nacional de Salud, como del establecimiento del precio al que éstos sean financiados. De aquí que puedan no ser financiados con fondos públicos aquellos grupos, subgrupos, categorías, clase de medicamentos o productos sanitarios cuya financiación pública no se justifique o, simplemente, no sea considerada necesaria; siempre bajo criterios de actualización y revisión periódica de la relación de medicamentos financiados, en función de la evolución de criterios cuales uso racional, conocimientos científicos, aparición de nuevos medicamentos con mayor utilidad terapéutica, o reconocimiento de efectos adversos que hagan variar la relación beneficio/riesgo.

El Estado del Bienestar alcanzado en nuestro país se hace cada día más gravoso para la administración nacional. El incremento del gasto sanitario, y de éste el consumo de medicamentos, que de hecho no supone en líneas generales más del 35% de aquel, constituye una parte importante de los presupuestos públicos, siendo su cuantía cada día más elevada y con una clara tendencia al alza, no sólo en España sino en toda la Unión Europea. Este aumento del gasto es consecuencia, entre otros factores, del incremento del número de afiliados a la Seguridad Social, de unas mayores expectativa de vida, en el año 2000 mayores de 65 años era el 16,1% estimándose que este porcentaje se situará en torno al 27,5% en el año 2050. De ello se deduce que anualmente habrá una población más envejecida, vulnerable a un mayor número de patologías, y necesitada de una polimedicación que, en términos económicos, repercute en el incremento del gasto sanitario inherente a la prestación farmacéutica y a la financiación pública

regulada por la Ley 29/2006, de 26 de julio de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios².

En consecuencia parece lógico que el Estado español adopte, sin que ello suponga merma alguna del bienestar social, medidas dirigidas a que la prestación de medicamentos por el Sistema Nacional de Salud se realice a precios razonables y con un gasto público ajustado, dentro de la necesidad de optimizar los recursos disponibles. Medicamentos seguros, eficaces y de calidad, pero al menor coste posible, en una prestación farmacéutica casi universal, configurada con un determinado sistema de copago y auspiciando el fomento del uso racional del medicamento; tales han sido los principios que han inspirado, en España, la política farmacéutica de los gobiernos democráticos.

Este planteamiento inicial ha ido evolucionando, de lo que dan cuenta los sucesivos documentos redactados a partir del año 2000. Desde 2004 ha regido un *Plan Estratégico de Política Farmacéutica para el Sistema Nacional de Salud*³, en el que se recoge el compromiso de diseñar un proyecto de nuevas actuaciones destinadas a garantizar la calidad de la prestación farmacéutica y a mejorar la eficiencia en el uso de los recursos económicos destinados a su financiación. Éste ha sido un necesario elemento de partida para la adopción de las actuales medidas de contención del gasto en medicamentos, entre las que cabe destacar el sistema de precios de referencia⁴, entendido como cuantía máxima con la que se financiarán las presentaciones de medicamentos incluidas en cada uno de los conjuntos que se determinen, siempre que se prescriban y dispensen con cargo a fondos públicos.

En síntesis, se propicia un sistema de reembolso que persiga el control del gasto farmacéutico desde la premisa de lograr su moderación con la reducción del precio pagado por los medicamentos sometidos a precios de referencia.

El citado plan estratégico no ha dado los resultados esperados, pues los criterios restrictivos para la fijación de precios han sido ineficientes para controlar el gasto sanitario. Sin embargo la evolución negativa de la coyuntura

² España. Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. *Boletín Oficial del Estado*, 24 de julio de 2006, núm. 178, pp.28122-28165.

³ *Plan Estratégico de Política Farmacéutica para el Sistema Nacional de Salud*, Ministerio de Sanidad y Consumo, noviembre 2004.

⁴ España. Resolución de 21 de enero de 2013, de la Dirección General de Cartera Básica de Servicios del Sistema Nacional de Salud y Farmacia, por la que se procede a la actualización de la cuantía máxima correspondiente a los medicamentos pertenecientes a los grupos ATC de aportación reducida, y se actualizan los límites máximos de aportación mensual para las personas que ostenten la condición de asegurado como pensionistas de la Seguridad Social y sus beneficiarios en la prestación farmacéutica ambulatoria. *Boletín Oficial del Estado*, 31 de enero de 2013, núm.27, pp. 7775-7776.

económica española y en particular el rápido deterioro de las cuentas públicas provocó un plan de ajuste presupuestario para conseguir situar el déficit público en el 3% del PIB en 2013, plan que afectó al gasto farmacéutico, para cuya contención fueron promulgados los Reales Decretos Leyes 4/2010⁵, 8/2010⁶ y 9/2011⁷ cuya aplicación no ha dado los resultados esperados ni tampoco la de la Orden SPI/3052⁸ por la que han sido desfinanciados fármacos siendo incluso perversa su aplicación para la sostenibilidad del Sistema, abocando a la industria farmacéutica a una difícil situación en detrimento de la viabilidad de sus planes de inversión en I+D+i.

De nuevo, en septiembre de 2012⁹, 427 medicamentos, en general para tratamientos de enfermedades leves, fueron excluidos de la financiación a cargo del SNS, de los cuales se recetaron poco más del 40% lo cual produce un impacto en las compañías farmacéuticas muy a tener en cuenta.

Queremos medicamentos seguros, eficaces y de calidad, con la debida información y al menor coste y promover su uso racional, tal como lo define la Organización Mundial de la Salud¹⁰ como: “uso conforme al cual los pacientes reciben la medicación apropiada para sus necesidades clínicas, a dosis que se ajustan a sus requerimientos individuales, durante un periodo de tiempo adecuado y al menor coste para ellos y para la comunidad”.

Pero muchos pacientes no podemos hacer uso racional porque carecemos de la medicación adecuada para nuestras necesidades clínicas por ello es necesario que la industria farmacéutica siga investigando para lograr medicamentos para

⁵ España. Real Decreto-ley 4/2010, de 26 de marzo, de racionalización del gasto farmacéutico con cargo al Sistema Nacional de Salud. *Boletín Oficial del Estado*, 27 de marzo de 2010, núm. 75, pp. 28989-29000.

⁶ España. Real Decreto-ley 8/2010, de 20 de mayo, por el que se adoptan medidas para la reducción del déficit público. *Boletín Oficial del Estado*, 24 de mayo de 2010, núm. 126, pp. 45070-45127.

⁷ España. Real Decreto-ley 9/2011, de 19 de agosto, de medidas para la mejora de la calidad y cohesión del sistema nacional de salud, de contribución a la consolidación fiscal, y de elevación del importe máximo de los avales del Estado para 2011. *Boletín Oficial del Estado*, 20 de agosto de 2011, núm.200, pp.93143-93168.

⁸ España. Orden SPI/3052/2010, de 26 de noviembre, por la que se determinan los conjuntos de medicamentos, y sus precios de referencia, y por la que se regulan determinados aspectos del sistema de precios de referencia. *Boletín Oficial del Estado*, 29 de noviembre de 2010, núm. 288, pp. 98641-98842.

⁹ España. Resolución de 17 de septiembre de 2012, de la Dirección General de Cartera Básica de Servicios del Sistema Nacional de Salud y Farmacia, por la que se corrigen errores en la de 2 de agosto de 2012, por la que se procede a la actualización de la lista de medicamentos que quedan excluidos de la prestación farmacéutica en el Sistema Nacional de Salud. *Boletín Oficial del Estado*, 25 de septiembre de 2012, núm. 231, p. 67892. Véase también: España. Resolución de 2 de agosto de 2012, de la Dirección General de Cartera Básica de Servicios del Sistema Nacional de Salud y Farmacia, por la que se procede a la actualización de la lista de medicamentos que quedan excluidos de la prestación farmacéutica en el Sistema Nacional de Salud. *Boletín Oficial del Estado*, 17 de agosto de 2012, núm. 197, pp. 59181-59191.

¹⁰ WHO. *Promoting Rational Use of Medicines: Core Components*. Geneva: WHO Policy Perspectives on Medicines, September 2002.

cubrir nuestras necesidades clínicas; la industria ha de ser motor de innovación y esto se mantendrá a cargo de sus beneficios industriales algo que en este momento no es fácil.

A pesar de todas las normas regulatorias encaminadas a la contención del gasto sanitario, del cual la prestación farmacéutica es como ha quedado dicho tan solo un 35%, este ha seguido creciendo haciendo tambalear la sostenibilidad del SNS.

Quizás convenga recordar que desde la aprobación de la Ley 49/1998, de 30 de diciembre de Presupuestos Generales del Estado para 1999¹¹ (Cap. III. Título I) el Estado asume totalmente, a través de las transferencias a las Comunidades Autónomas, la financiación pública de la asistencia sanitaria desvinculándose con ello la asistencia sanitaria de las aportaciones de la seguridad social, lo cual, entendemos, produce un desajuste entre gastos e ingresos que es cada vez más acusado y su agravamiento, debido obviamente al estado crítico de las cuentas del Estado, y de las Comunidades Autónomas cuyo déficit se ha disparado, entre otras causas, por la crisis que estamos padeciendo y de la cual todos queremos salir, ha guiado al Gobierno de España a tomar una serie de medidas, en el tema que nos compete, encaminadas a que la asistencia sanitaria siga siendo pública, universal y gratuita al tiempo que sostenible el SNS, iniciando una “*Reforma Sanitaria*”, pactada con las CC.AA., que resumen en diez puntos las clave definitorias de las medidas a tomar¹².

A nuestro juicio esta es una de las reformas con mayor impacto en el sector farmacéutico y, en líneas generales, no precisamente positivo para el desarrollo del mismo.

Consecuencia de la reforma en el B.O.E. de 24 de abril de 2012, aparece publicado el Real Decreto Ley 16/2012, de 20 de abril, de medidas urgentes para garantizar la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud y mejorar la calidad y seguridad de sus prestaciones¹³. El objetivo perseguido con esta normativa es, básicamente, afrontar la reforma estructural del SNS dotándolo de solvencia, equidad y cohesión que permitan su sostenibilidad.

Quizás uno de los grandes retos actuales del SNS sea la financiación pública de medicamentos y productos sanitarios, que si bien es cierto que el gasto

¹¹ España. Ley 49/1998, de 30 de diciembre, de Presupuestos Generales del Estado para 1999. *Boletín Oficial del Estado*, 31 de diciembre de 1998, núm. 313, pp. 44352-44410.

¹²

Véase:

<http://www.msc.es/gabinetePrensa/reformaSanidad/docs/cuadripticoReformaSanitaria.pdf>

¹³ España. Real Decreto-ley 16/2012, de 20 de abril, de medidas urgentes para garantizar la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud y mejorar la calidad y seguridad de sus prestaciones. *Boletín Oficial del Estado*, 24 de abril de 2012, núm. 98, pp. 31278-31311.

derivado de la prestación farmacéutica no representa mas de un tercio del gasto sanitario total, éste se ha disparado en los últimos años mas de lo previsible, lo cual es gravoso para el Estado, motivo por el cual en el IV del Real Decreto Ley referido se incorporan medidas sobre la prestación farmacéutica, acordes con las medidas que los demás países de la Unión Europea están tomando para optimizar sus modelos farmacéuticos y asistenciales.

Entre estas medidas están la modificación de los artículos 85, 86, 89, 90, 91, 93, 94, 97, apartado 1 de la disposición adicional sexta y el párrafo segundo del apartado 1 de la disposición adicional de la decimocuarta de la Ley 29/2006, de 26 de julio de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios

El texto modificado recoge, en el artículos 85.2, que en el SNS la prescripción de medicamentos incluidos en el sistema de precios de referencia o de agrupaciones homogéneas no incluidas en el mismo la primera prescripción se realizara, básicamente, tanto en los procesos agudos como en los crónicos, por principio activo, no excluyendo la prescripción por denominación comercial pero solo *“cuando se respete el principio de mayor eficiencia para el sistema y en el caso de los medicamentos considerados como no sustituibles”* es decir el medicamento de marca queda, en la práctica, relegado a la prescripción privada es decir no financiable con fondos públicos, lo que supone un gasto mayor para los consumidores que confían en estos fármacos

Todo ello obliga a los prescriptores, médicos, odontólogos y podólogos al necesario apoyo de la administración para cumplir sus objetivos, lo cual recoge la norma en el artículo 85 bis, al establecer la necesidad de las CC.AA de dotarles de un sistema de apoyo a la prescripción electrónica.

Un aspecto a tener en cuenta es que, para garantizar la sostenibilidad del SNS, el Estado considera necesaria una mayor aportación del beneficiario en la prestación farmacéutica, no es que el copago fuese inexistente, es que ahora se explicita que: *la prestación farmacéutica ambulatoria estará sujeta a aportación del beneficiario* (Artículo 94 bis.2), y además ya no se relaciona únicamente con la condición de su situación de “activo” o “pensionista” sino que aquella será proporcional al nivel de renta.

En líneas generales los activos cuya renta sea igual o superior a 100.000 euros abonarán el 60% del PVP, los de renta igual o superior a 18.000euros pagarán el 50% PVP y los de renta inferior a 18.000 euros el 40% del PVP.

Por regla general los pensionistas abonarán, cuando les sean dispensados medicamentos de prescripción, el 10% del PVP, estableciéndose además un límite máximo mensual de 8 euros para aquellos con rentas inferiores a 18.000, y de 18 euros para aquellos cuyas rentas sean superiores a 18.000 euros e inferiores a

100.000, siendo de 60 euros el límite máximo mensual para todos aquellos cuya renta sea superior o igual a 100.000 euros.

Los mutualistas y clases pasivas de MUFACE (Mutualidad General de Funcionarios Civiles del Estado), ISFAS (Instituto Social de las Fuerzas Armadas) y Mutualidad General Judicial (MUGEJU) habrán de abonar tras la dispensación el 30% del PVP.

Lógicamente hay excepciones, por ello están exentos de aportación los afectados del síndrome tóxico, las personas perceptoras de renta de integración social, las de pensiones no contributivas los parados que han perdido el derecho a percibir el subsidio de desempleo, mientras subsista esta situación, y los tratamientos derivados de enfermedad profesional o accidente de trabajo

En los tratamientos de aportación reducida los usuarios, excepto los que pertenezcan a colectivos exentos de aportación, abonarán el 10% del PVP y una cuantía máxima de 4,13 euros por envase. Los enfermos de VIH tendrán también esta aportación.

Desde la aplicación de la norma precitada el descenso del número de recetas de medicamentos financiados por el SNS ha disminuido, lo que ha supuesto una contención del gasto, pero no ha aumentado en la misma medida, la dispensación de genéricos o de autoconsumo. En cualquier caso entendemos que la contención del gasto en términos economicistas puede no favorecer el uso racional de los medicamentos y tal vez promover el uso racionado.

Es más, la aplicación de la normativa reguladora no ha conseguido todos los resultados esperados. De hecho habría que preguntarse el porqué de la excesiva carga de gestión del farmacéutico con oficina de farmacia que además recibe todas las protestas de los consumidores y usuarios al relacionar, en general, el incremento del copago con el beneficio del sanitario.

Al precedente aserto habría que añadir el desigual cumplimiento de la norma en las comunidades autónomas, baste recordar las medidas adoptadas por algunas de ellas cuales Andalucía con la subasta de medicamentos¹⁴, presumiblemente inconstitucional, o las de la Comunidad Valenciana¹⁵ que entendemos rompen el principio de equidad perseguido por la norma.

¹⁴ España. Resolución de 20 de diciembre de 2012, de la Dirección Gerencia del servicio Andaluz de salud, por la que se anuncia convocatoria para la selección de medicamentos a dispensar por las oficinas de farmacia de Andalucía, cuando sean prescritos o indicados por principio activo en las recetas médicas y órdenes de dispensación oficiales del sistema nacional de salud. *Boletín Oficial de la Junta de Andalucía*, núm. 250, 24 de diciembre de 2012, pp. 11-81.

¹⁵ España. Decreto Ley 2/2013, de 1 de marzo, del Consell, de Actuaciones Urgentes de Gestión y Eficiencia en Prestación Farmacéutica y Ortoprotésica. *Boletín Oficial de la Comunidad Valenciana*, núm. 6978, 5 de marzo de 2013, pp. 6425-6452.

La no consecución de los resultados perseguidos parece obvio, por ello las autoridades sanitarias se están planteando, ya, una revisión de los tramos de copago por considerarlos muy dispares e introducir tramos intermedios que se corresponderán con nuevas aportaciones lo cual podrá, tal vez, acarrear otro motivo más de desencuentro entre la administración, los profesionales sanitarios y los consumidores y usuarios.

En este sentido es constatable que en 2012 ha habido un descenso por habitante del gasto farmacéutico de aproximadamente un 12,2%, en líneas generales, y es de esperar que este año alcance el 16%, sin menoscabo de que per capita gastamos menos que otros países de nuestro entorno; del orden de 239 euros en España frente a los 459 en Alemania y 527 de Irlanda.

¿Cómo habría de interpretarse el descenso del consumo de medicamentos? ¿Hemos de cuestionarse si la actual falta de adherencia de polimedicados, enfermos crónicos y mayores de 65 años, aunque no se han encontrado evidencias científicas, puede ser una consecuencia de aumento de la aportación?

Este es un hecho preocupante y Comunidades Autónomas como Extremadura (Plan de Salud de Extremadura 2009-2012 o Plan Azuaga 2009), o Castilla León, han puesto en marcha mecanismos para medir el impacto del copago en la adherencia a los tratamientos. En el mismo sentido se ha pronunciado el Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos que desarrollará su estudio enfatizando la detección de los factores influyentes y como y cuál puede ser la actuación del farmacéutico.

Respecto a las medidas tomadas respecto a la atención farmacéutica en hospitales, centros de asistencia social, en régimen de asistidos, y centros psiquiátricos (Cap.IV. art.6 y 7) es importante, como norma de carácter general, la obligatoriedad de establecer en ellos un servicio de farmacia cuando tengan cien o más camas, no obstante deja a la Consejería de Sanidad de los distintos gobiernos autonómicos la responsabilidad en materia de prestación farmacéutica lo cual en la práctica genera desigualdades poniendo en peligro la cohesión, equidad y solidaridad.

Además de lo expuesto en párrafos anteriores es importante destacar que se estima que el gasto en medicamentos en hospitales españoles sea cercano a 4.000 millones de euros, lo que supone un gasto del 40% del total de medicamentos dispensados y un aumento considerable respecto a años anteriores. Por este motivo existen diferentes medidas para incrementar el ahorro como son: la financiación selectiva, la reducción de la variabilidad en la prescripción y la actuación eficiente en la prevención de enfermedades.

Sin menoscabo de lo anterior en nuestro país tal vez haya habido un desequilibrio, entre lo que se puede y lo que se debe, costoso para el Estado,

cierto es que este desequilibrio se produce también en otros países de la U.E. aunque el impacto de la crisis no ha sido igual en todos, en Finlandia y Dinamarca, por citar dos ejemplos, el gasto farmacéutico se ha incrementado en estos dos últimos años¹⁶ y no es menos cierto que las políticas farmacéuticas llevadas a cabo por todos los estados miembros están erosionando los principios de equidad y solidaridad marco ético de todas las políticas sanitarias.

En España a lo antedicho habría que añadir las enormes desigualdades existentes, al respecto, en las diecisiete comunidades autónomas que están generando problemas graves tanto para los consumidores como para las oficinas de farmacia, muchas de las cuales se ven obligadas, por impagos de la administración autonómica, a echar el cierre a sus establecimientos, Cataluña y Valencia son dos buenos ejemplos.

La sostenibilidad del SNS se está resquebrajando y tal vez hemos de replantearnos si el estado de bienestar actual es viable o hemos de reinventarlo como en Suecia que han pasado de un “Estado Benefactor” a un “Estado Posibilitador”¹⁷.

Además, en nuestro país, lo que vulgarmente se conoce como “turismo sanitario”, se han detectado casos, no urgentes, que teniendo la cobertura sanitaria, en su país de origen garantizado, han hecho uso de los servicios sanitarios de modo oneroso.

Por ello, en la consideración de lo dispuesto en el artículo 3 de la citada norma establece que *la Asistencia sanitaria en España, con cargo a fondos públicos, a través del SNS, se garantiza a aquellas personas que ostenten la condición de asegurado*, ha sido necesario expresamente definir quienes tienen esa condición.

Esta modificación de la ley de garantías fue objeto, entre otros, de diversas peticiones de recurso, por parte de diferentes colectivos, ante el Defensor del Pueblo argumentando su posible contrariedad ante el articulado constitucional¹⁸. Sin embargo, no se encontraron fundamentos jurídicos suficientes para interponer un recurso de inconstitucionalidad ante dicho Real Decreto.

En virtud de esta petición se presentaron cinco recomendaciones dirigidas al Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad en las que se solicita el acceso efectivo a la protección de la salud para colectivos en situación vulnerable;

¹⁶ Véase:<http://www.elglobal.net/elglobal/articulo.aspx?idart=754852&idcat=783&tipo=2>

¹⁷ Rojas, Mauricio. Reinventar el Estado de bienestar. Madrid: Ed. Gota a gota, 2010.

¹⁸ Resolución de 20 de julio de 2012, de la Defensora del Pueblo (e.f.) con motivo de la solicitud de interposición de recurso de inconstitucionalidad contra el Real Decreto-ley 16/2012, de 20 de abril, de medidas urgentes para garantizar la sostenibilidad del sistema nacional de salud y mejorar la calidad y seguridad de sus prestaciones.

Enlínea:<http://www.defensordelpueblo.es/es/Documentacion/Recursos/inconstitucionalidad/PDFs/Resolucion.pdf>

que los pacientes con enfermedades graves reciban una atención adecuada; que se mantenga la gratuidad del transporte sanitario no urgente para pacientes con tratamientos periódicos y de larga duración; que se revise el sistema de fijación de precios de los medicamentos de uso humano; y que se elabore una nueva regulación en materia de prescripción de medicamentos para indicaciones diferentes a las autorizadas.

En síntesis, las reformas introducidas tras la aplicación del Real Decreto Ley 16/2012 entendemos no han alcanzado los objetivos perseguidos. La financiación pública de los medicamentos y productos sanitarios es decir la fijación de precios (art. 90) de aquellos financiados con fondos públicos, sigue siendo una asignatura pendiente para el Estado español, ¡un gran reto!

Creemos desconcertante la introducción de, además del precio de referencia, de otros cuales: el precio notificado, el seleccionado, el de menor precio...que no han hecho, a nuestro entender, mas que crear problemas de interpretación y de aplicación, sirva de ejemplo el precio notificado, o precio dual, que no es otra cosa que el precio que el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad estima que puede ser comercializado un medicamento, por razones de interés público, con independencia de lo que desee el laboratorio titular, pues bien cuando ha empezado a aplicarse la norma, el Ministerio manifiesta que solo va a ser de aplicación para los medicamentos sin financiación pública y para los de uso hospitalario es decir urge su desarrollo. Lo mismo diríamos de los precios seleccionados que también está pendiente su desarrollo y que, en principio, el Ministerio de Sanidad se reserva su aplicación.

Por todo ello consideramos, aunque desconocemos cuando será publicado, que el Real Decreto de fijación de precios debería ser prioritaria su promulgación

Respecto al gasto farmacéutico cabría plantearse, además, si ha de considerarse como un gasto o una inversión en Salud. Nuestra opinión es que es una inversión en salud sin menoscabo de que no obviemos el mal uso que se hace, en muchos casos de los medicamentos, y que nos cuestionemos ¿a que es debido?.

Por otra parte sería conveniente reflexionar sobre aspectos tan relevantes de los fármacos cuales son el autoconsumo de los mismos, la introducción en el ámbito sanitario de la necesaria prescripción por principio activo, la promoción del consumo de medicamento genéricos¹⁹ o biosimilares, medidas todas ellas buenas y convenientes que han generado cierto debate social respecto a su relación calidad/precio pero que no son, permítannos la licencia intelectual, ni la panacea ni la triaca magna de nuestro siglo, que sirven para todo tipo de males.

¹⁹ Basante Pol, Rosa y Yagüe López-Belmonte, M^a Dolores. Medicamento genérico y bienestar social. En: *Cordialero de libros y medicamentos. Homenaje al Dr. José María Suñé Arbussà*. Madrid: Ed. SDUHFE, 2009, pp.343-360.

La contención del gasto es buena y añadamos que para un mejor control del mismo, evidentemente, no podemos desconsiderar el porqué tiramos medicamentos. Sin duda desde el punto de vista económico no nos lo podemos permitir, aunque de hecho se haga, sin embargo desde una perspectiva ética el hecho de desperdiciar un bien tan necesario y costoso nos permite reflexionar sobre si se están realizando de forma correcta los objetivos propuestos tanto a nivel nacional como internacional.

Por otro lado es importante destacar que los residuos de medicamentos ponen de manifiesto los preocupantes costes de destrucción de productos desechados sin utilizar o de unidades excedentes de las pautas terapéuticas establecidas, que no sólo confirman la necesidad de mejorar la eficiencia en el proceso de prescripción, dispensación y uso de medicamentos, sino que alertan de los preocupantes costes medioambientales derivados.

El deterioro del medio ambiente es un problema bastante común en la época actual ya que además de producir efectos adversos, irremediables en muchos casos, supone un gasto económico considerable para los Estados comunitarios. El derecho a un medio ambiente sano es considerado como un derecho de tercera generación que engloba a un conjunto de derechos de aparición reciente, producto de acuerdos de la comunidad internacional como es el caso de los tratados internacionales (Declaración Universal de los Derechos Humanos, artículos 22, 25 y 27, Pacto Internacional para los Derechos Sociales, Económicos y Culturales, art. 1, 6, 7, 11, 12, 13 y 15 Convención Internacional para la Eliminación de todas las Formas de Discriminación Racial, art. 2 y 14). De hecho nuestra carta magna en su artículo 45 establece que:

“Todos tienen el derecho a disfrutar de un medio ambiente adecuado para el desarrollo de la persona, así como el deber de conservarlo.

Los poderes públicos velarán por la utilización racional de todos los recursos naturales, con el fin de proteger y mejorar la calidad de vida y defender y restaurar el medio ambiente, apoyándose en la indispensable solidaridad colectiva.

Para quienes violen lo dispuesto en el apartado anterior, en los términos que la ley fije se establecerán sanciones penales o, en su caso, administrativas, así como la obligación de reparar el daño causado.”

En este contexto internacional nace el Sistema de gestión de calidad adecuada de residuos de envase (SIGRE) como una entidad sin ánimo de lucro creada para garantizar la correcta gestión medioambiental de los envases y restos de medicamentos de origen doméstico.

Su puesta en marcha fue promovida en 2001 por los laboratorios farmacéuticos y cuenta con la participación activa de las oficinas de farmacia y las empresas de distribución farmacéutica.

SIGRE está constituida por las principales instituciones que representan a los agentes que forman la cadena del medicamento como son la Asociación Nacional Empresarial de la Industria Farmacéutica (Farmaindustria), el Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (CGCOF), la Federación Nacional de Asociaciones de Mayoristas Distribuidores de Especialidades Farmacéuticas (FEDIFAR).

Los objetivos principales son de tipo medio ambientales y sanitarios de acuerdo al ordenamiento jurídico español. Por un lado, dicha entidad reduce los perjuicios medioambientales que los envases y restos de medicamentos pueden ocasionar, mediante la prevención de los residuos en origen y el correcto tratamiento medioambiental de los residuos generados. Por otro lado, favorece la no acumulación de medicamentos en los hogares e informa al ciudadano sobre los riesgos sanitarios derivados del uso inadecuado de los mismos.

Dicha actividad supone una inversión y origina un gasto provocado indirectamente por el uso de medicamentos que la sociedad debe afrontar en consonancia con el respeto al medio ambiente.

Además de todo lo expuesto, es conveniente incidir en la importancia de la educación sanitaria en su relación con el gasto farmacéutico. La educación para la salud es definida según la Organización Mundial de la Salud como un conjunto de actividades de información y educación que estimulan a las personas a querer disfrutar de buena salud a saber cómo alcanzar dicho objetivo, hacer todo lo posible, individual y colectivamente para conservar la salud y recurrir a una ayuda en caso necesario.

Además, dicha definición podría ser ampliada atendiendo al ordenamiento jurídico español, más concretamente a la Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias²⁰. Dicha ley establece que:

3. *“Los profesionales sanitarios desarrollan, entre otras, funciones en los ámbitos asistencial, investigador, docente, de gestión clínica, de prevención y de información y educación sanitarias.*

4. *Corresponde a todas las profesiones sanitarias participar activamente en proyectos que puedan beneficiar la salud y el bienestar de las personas en situaciones de salud y enfermedad, especialmente en el campo de la prevención de enfermedades, de la educación sanitaria, de la investigación y del intercambio de información con otros profesionales y con las autoridades sanitarias, para mejor garantía de dichas finalidades”.*

²⁰ España. Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias. *Boletín Oficial del Estado*, núm. 280, 22 de noviembre de 2003, pp. 41442-41458.

Por lo tanto los profesionales sanitarios tienen un doble papel como modelos y como educadores sanitarios a la hora de informar a la sociedad de la importancia de los medicamentos desde un punto de vista terapéutico y económico para así disponer de los mismos de una manera siempre racional.

En este contexto tan complejo, las asociaciones de laboratorios fabricantes de medicamentos coinciden en señalar el descontento en el sector ante esta encrucijada. La patronal de la industria farmacéutica Farmaindustria se ha pronunciado al respecto en estos términos: “se ha producido una ruptura estructural en el comportamiento de la serie de gasto farmacéutico, con efectos permanentes a corto, medio y largo plazo”. La patronal de medicamentos genéricos AESEG demanda “más previsibilidad” y otras coinciden en que ha habido un descenso, como hemos referido, del consumo.

Medicamentos seguros, eficaces y de calidad pero, entendemos, es necesaria una mayor racionalización de los criterios de financiación en los que la consideración de que junto al análisis de eficacia comparativa, efectividad clínica y efectividad económica y su incidencia en el impacto presupuestario sea importante la valoración de los informes técnicos de posicionamiento terapéutico(ITP) , algo estudiado y aprobado por el Consejo Interterritorial de Salud en su reunión de 20 de diciembre de 2012, que permite identificar la verdadera aportación terapéutica de los fármacos en función de criterios de carácter terapéutico e innovador, con independencia del criterio económico que será valorado posteriormente en función de criterios coste/efectividad por los órganos competentes de las distintas comunidades autónomas.

No podemos olvidar cual es, ante esta reforma, el sentir de los profesionales de oficinas de farmacia que señalan que el descenso del número de recetas dispensadas, entre un 2% y un 3% la dispensación a precios más bajos, y la revisión trimestral han llegado a ser preocupantes.

La Farmacia es un importante activo en salud en el ámbito asistencial que conlleva un seguimiento de la medicación a pacientes crónicos y polimedicados, una atención sociosanitaria, campañas de prevención de la salud, etc. Destacar que la sostenibilidad del Sistema requiere precisamente aprovechar el potencial sanitario y la capilaridad de la Red Asistencial de Farmacias. Una Farmacia que es eficaz para los pacientes, eficiente para el Sistema Nacional Salud y que, en estos momentos difíciles de crisis, está priorizando que el paciente disponga en todo momento del medicamento que necesita.

En definitiva entendemos que la farmacia española es un modelo a exportar, un modelo social y sanitario que debe ser potenciado y nunca deteriorado.

Por ello el afrontar la reforma estructural del Sistema Nacional de Salud debe ser una tarea común. La sostenibilidad del Sistema debe garantizarse desde

el respeto a la cohesión, equidad y solvencia, el poder legislativo y ejecutivo compete a la Administración, obviamente, pero sin olvidar que para ello, y en la toma de decisiones, es conveniente la participación del “sector farmacéutico”, importantísimo motor de desarrollo económico en nuestro país y pieza clave en la sostenibilidad del SNS y en la consecución del bienestar social.

De lo antedicho concluimos que este importante sector necesita previsibilidad y estabilidad es decir conocer cual es, o va a ser a corto plazo, la política farmacéutica del Gobierno español para planificar sus inversiones.

Reiteramos lo dicho “es tarea común”, por ello evocamos esos versos del poeta farmacéutico León Felipe:

*Venid todos y ayudadme
A sacudir este árbol
¿no veis que solo no puedo?
venid pronto
que el fruto ya está dorado
venid pronto
antes de que a las estrellas
se las coman los gusanos*

Presentación del libro “Retrosceso en el tiempo: la investigación biomédica en España. Testimonios y reflexiones: lecturas para el futuro”



Ana Mª Pascual-Leone Pascual

Coordinadora de la sesión y editora del libro.
e-mail: apl@ranf.com

Acto presidido por el Excmo. Sr. D . Mariano Esteban, Presidente de la RANF y por la Excmo. Sra. Dña. Carmen Vela, Secretaria de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación. Sesión científica celebrada el 24 de enero de 2013.. An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 308-330

ORDEN DEL DÍA

Presentación:

“Simplemente gracias”

Excmo. Sra. D.ª. Ana Mª Pascual-Leone Pascual

Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia. Investigador del CSIC

Ponentes:

“Experiencias para mejor diseñar el porvenir”

Excmo. Sr. D. Federico Mayor Zaragoza

Catedrático de Bioquímica de la Universidad Autónoma de Madrid y Presidente de la Fundación Cultura de Paz y del Consejo Científico de la Fundación Areces. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.

“Actores, políticas y reflexiones”

Ilmo. Sr. D. Emilio Muñoz Ruiz

Profesor de investigación del CSIC “ad honorem”. Instituto de Filosofía, CCHS, CSIC y Unidad de Investigación en Cultura Científica, CIEMAT.

“SIMPLEMENTE GRACIAS”

Ana María Pascual-Leone

Unas muy breves palabras para no quitar tiempo en este Acto a los Sres. Ponentes; Dres D. Federico Mayor Zaragoza y D. Emilio Muñoz Ruiz. Mi agradecimiento es infinito hacia ellos por haber aceptado presentar nuestro libro.

Este libro me ha producido muchas gratificaciones. Los humanos, al menos yo, nunca estamos al cien por cien seguros de que se acierta en un proyecto, y la primera gran satisfacción que tuve es ver compartida la ilusión de hacerlo con todos los investigadores que testimonian. Compartir el interés de la idea con todos, fue fundamental para mi.

Este libro ha sido un ejemplo claro de que la solidaridad en una empresa merece la pena vivirla. De verdad, muy profundamente, muchísimas gracias a todas las personas que, de forma absolutamente desinteresada, testimonian en este libro. El éxito, si lo hay, es totalmente suyo. Mi verdadero acierto fue el elegir las personas adecuadas. Con sus ideas, sus comentarios siempre acertados, el libro es un fruto, compartido por todos nosotros, lo cual ha ido enriqueciendo el contenido.

Se ha tratado de difundirlo, lo más posible, a poderes públicos y políticos, a quienes agradezco, sinceramente, su acogida. Hemos tratado de aportar historias vivas, experiencias y reflexiones que puedan comunicar, realmente, lo que es y lo que significa el trabajo de investigación y ayudar a que, al margen de tendencias políticas, se llegue al sentimiento unánime en nuestro país de que, en el siglo XXI, un país sin Ciencia no es nada, ya que, hoy, la Ciencia es una parte importante de la Cultura. Y, por consiguiente, se establezca, en cualquier circunstancia del país, una voluntad decidida de protección a la investigación, con un soporte económico continuado y sostenible.

Por ello, quiero destacar el testimonio, en nuestro texto, y con perspectiva distinta, de los dos investigadores en activo. Dres Garcia Segura y Dra. Guerri, porque tienen la valentía y la fuerza de mostrar y denunciar, lo que se esta haciendo mal.

Agradezco a la Dra. Miras Portugal, Expresidente de esta Real Corporación, su presentación y al Dr. Federico Mayor Menéndez, actual Presidente de la SEBBM, su prólogo; conciso, riguroso y cortés, como lo es siempre el Dr. Mayor Menéndez en su brillante trabajo científico y en su vida personal.

También quiero dar las gracias al Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces, a todos sus componentes, y muy especialmente a su Vicepresidente y Presidente: Dres Rodríguez Villanueva y Dr. Mayor Zaragoza, por el total soporte económico de esta publicación y, también, por haber, con su testimonio, enriquecido nuestro libro. Sin el apoyo de la Fundación Areces, como muchos otros actos y cuestiones culturales en este país, este libro no hubiera podido hacerse.

Agradezco, así mismo, las reseñas sobre nuestro texto que se publicaran en breve del Dr. D. Vicente Rubio para la revista de la SEBBM y para los Anales de nuestra Academia del Dr. D. Antonio González Bueno.

Por último, quiero destacar que, como expresa la dedicatoria, éste libro es de todos los investigadores, de cualquier temática, que trabajaron en la postguerra civil. Todos ellos se implicaron en una empresa igualmente difícil y, desde el conocimiento personal de la dificultad que entrañaba, quiero, públicamente, rendirles homenaje.

Muchísimas gracias a todos.

“EXPERIENCIAS PARA MEJOR DISEÑAR EL PORVENIR”

Federico Mayor Zaragoza

El valor de la experiencia

Quiero en primer lugar, aunque ya lo ha hecho el Sr. Presidente, rendir homenaje a Dña. Ana María Pascual-Leone Pascual porque, desde el momento en que tuvo la idea de esta obra en la que se compartiera y plasmara la experiencia de una serie de investigadores y a la que tituló *“Retrosceso en el tiempo: la investigación biomédica en España”*, ha tenido que realizar un enorme esfuerzo de coordinación. Es una mujer perseverante. No sólo tiene buenas ideas sino que, después, es capaz, a pesar de las resistencias debidas normalmente a nuestras agendas, de coronar con éxito sus iniciativas. Sin su insistencia, sin su organización, no se habría publicado el excelente libro que hoy se presenta en esta Real Corporación para –tal como ella había imaginado– compartir nuestras experiencias y reflexiones. La experiencia, Sr. Presidente, es lo que queda como balance de los aciertos y los errores de toda vida, pero es, créame, un tesoro normalmente inexplorado, sin utilizar.

Recuerdo cuando con Don Severo Ochoa visitaba, hace ya muchos años, la Universidad de Stanford y a la entrada, en el hall, había una gran fotografía de una persona que se veía ya mayor y ponía : “No nos niegue su experiencia”. Pues bien, esto es lo que tenemos que hacer: tenemos que compartir nuestra experiencia para que, finalmente, en un momento determinado, se puedan trasladar a otras personas estos balances de la propia vida. Lo cual ayuda a saber cuáles son las posibles soluciones, cuáles son los nuevos rumbos que deben adoptarse y cómo podemos iluminar el mañana.

La memoria histórica y la capacidad creadora

He recordado siempre el consejo que me dio mi padre: escuchar, porque de esta manera se captan nuevos mensajes y se percibe que pueden hacerse cosas que no se habían imaginado o que se creían imposibles. Los imposibles se hacen muchas veces posibles gracias, precisamente, a esta oportunidad de escuchar, de beneficiarse de la experiencia de los demás. Por eso me gusta que se diga en el libro *“testimonios y reflexiones: lecturas para el futuro”*, porque lo que realmente cuenta siempre, me interesa insistir en ello, es el porvenir. El porvenir está por hacer y lo podemos cambiar. Lo que no podemos cambiar es el pasado. Del pasado tenemos que extraer las lecciones –que es lo que aquí se pretende– pero que nadie se engañe: primero hay que describirlo fidedignamente, la memoria histórica es fundamental. Porque sólo cuando sabemos lo que sucedió, podemos pensar lúcidamente en el porvenir, que está por hacer, está por inventar.

¡Inventar el futuro! En junio del año 60 -estaba en aquel momento en Sausalito, en EE. UU- aquel gran presidente de Estados Unidos, J.F. Kennedy, dijo que no hay ninguna realidad que no se pueda modificar: “No hay ningún desafío que se halle situado más allá de la capacidad creadora de la especie humana”. Cada uno es capaz de inventar su vida. La facultad creadora, una desmesura desde el punto de vista bioquímico, es nuestra esperanza. Es, gracias a estas reflexiones, a esta experiencia personal, que podemos ayudar a los que llegan a unos pasos de nosotros a establecer sus propias opciones, sus propias alternativas, sus propias decisiones.

Contribuciones del libro

De una manera muy rápida voy a mencionar a algunos de los participantes, aunque en realidad me gustaría referirme a todos: Teresa Miras Portugal como científica, y como la que ha sido Presidenta excelente de esta Real Corporación hasta hace bien poco... No menciono a Federico Mayor Menéndez porque, ya saben ustedes lo que se dice en estos casos..., pero sí que puedo aplicar la frase *“pude enseñarte a volar pero no seguir tu vuelo”*...

- José María Segovia de Arana, es la primera contribución. No cabe duda que es una persona de una trayectoria excepcional. Se aprende mucho al leer lo que ha hecho. José María Segovia de Arana ha sido un personaje absolutamente angular en la medicina española, en el acercamiento de los Centros de Investigación a las Universidades, en que las Universidades tuvieran una capacidad directa de docencia e investigación. Recuerdo que, en aquella época, a los hospitales les llamaban “Residencias” pero no les gustaba darle el nombre de hospital y menos de hospital universitario. Esto es una victoria que se alcanzó gracias a José María Segovia de Arana. Creó el Fondo de Investigaciones

Sanitarias, los estudios MIR (médicos internos residentes etc.). ¡Qué bien, qué bien, que esta experiencia extraordinaria quede aquí reflejada!

- Gertrudis de la Fuente: fue una de las personas que fueron capaces, sobre todo al lado de Alberto Sols -aunque empezó con D. Ángel, con el maestro de todos- de llevar a cabo una portentosa carrera científica. ¡Qué maravilla de trayectoria humana, qué experiencia la suya!

- Julio Rodríguez Villanueva presenta unas declaraciones, una entrevista que refleja fielmente que se trata de una de estas personas con una trayectoria colmada de realizaciones, sobre todo en el ámbito de la microbiología, con la creación de una escuela muy importante en investigación científica.

- Gabriela Morreale: le tengo un especial afecto a Gabriela Morreale. Me encanta su título: *“Un camino de rosas con todas sus espinas”*. Es verdad. Normalmente hablamos sólo de las rosas pero hay que ver después lo que muchas de estas rosas contienen... Decía que profeso un especial afecto y un especial aprecio tanto a ella como a Paco. ¿Por qué? Pues porque en el momento en que iniciábamos la difícil experiencia de la prevención de las afecciones neuronales de manifestación postnatal, que cursan con un grave e irreversible deterioro de las capacidades intelectuales, contar con los conocimientos y realizaciones que aportaba el matrimonio Gabriela Morreale-Francisco Escobar fue muy importante. Hay que señalar la gran dificultad que representaba entonces la división tajante entre la enfermedad, la medicina y la universidad.

A este respecto, he contado muchas veces mi visita en los años 60 al Director General de Sanidad -entonces no había Ministerio de Sanidad, había un Director General y estaba en el Ministerio de la Gobernación- que en aquel momento era D. Jesús García Orgoyen, una persona con gran prestigio profesional. Le fui a proponer, joven profesor entonces, un plan nacional para prevenir una serie de enfermedades (enfermedades “infrecuentes”) que la madre “compensa” durante la gestación, pero que en la vida autónoma presentan afecciones irreversibles. “He visitado un centro, he visto a estos niños y me han dejado absolutamente destrozado, porque la mayor parte padecen defectos genéticos o adquiridos que podrían haberse evitado”. El Director General me dijo: “Comprenda que éstas son enfermedades raras y yo tengo que tratar enfermedades como la tuberculosis, la polio, el tifus”... Le interrumpí: “Perdóneme, pero acaba usted de decir algo que no debe decir nunca a una madre que venga e exponerle una enfermedad de su hijo, porque le contestará que como la vida no se vive más que una vez, y es su hijo, para ella es el cien por cien”. Benavente escribió que “cada niño es toda la humanidad”. ¡Qué razón tenía! Especialmente para los progenitores...

Bueno, lo que es cierto es que aquello fue adelante. Y fue adelante en buena medida gracias a personas como Gabriela Morreale, que aportaron inmediatamente, sobre todo en lo que tiene que ver con las afecciones del tiroides, que son las más habituales, sus saberes analíticos y prácticas terapéuticas. Aquí esta José María Medina, nuevo Académico, que conoce muy bien la importancia que en la incorporación al plan de estudios de la bioquímica perinatal y la patología molecular tuvo Gabriela Morreale.

- Don Claudio Fernández de Heredia. Fíjense: *“De boticario rural a investigador científico”*. Es una historia preciosa también y creo que vale la pena tenerla muy en cuenta.

- Doña Pilar González González. A Pilar González tengo que reconocer que le tengo un cariño extraordinario, porque es una persona lúcida, incansable, a la que le gusta estar siempre, como hoy aquí, poco “aparente”. Pilar González tiene una personalidad extraordinaria, es una mujer de una solidaridad humana sin límites y considero un acierto que también sea una de las autoras, porque creo que tenemos que aprender mucho, precisamente, de estas personas que de una forma discreta y silente procuran una contribución de primer orden tanto científica como humanamente.

- El Sr. Secretario de esta Corporación, D. Bartolomé Ribas Ozonas. Empieza en Mallorca y pasa de Mallorca a Santiago de Compostela y a Madrid... Fructífero recorrido, aleccionador.

-A Rosario Lagunas la recuerdo muy bien como una de las personas angulares del grupo relacionado con Alberto Sols. Alberto Sols, en aquellos años (1956) tuvo un impacto enorme. Regresó de los Estados Unidos, después de haber trabajado con Gerta y Carl Cori. Estábamos en la época de la bioquímica “estática” y “dinámica”. Se acababa de pasar de la Química Orgánica a la Química Biológica, importante transición llevada a cabo en España por D. Ángel Santos Ruiz cuando estaba de profesor adjunto del Prof. Giral, personaje que fue Ministro de la República en aquellos años tan difíciles. La Química Biológica era una acepción muy adecuada de Bioquímica: hoy tenemos el *Journal of Biological Chemistry* que sigue llamándose así... Cuando llega Alberto Sols pasamos de ser “estáticos” a “dinámicos”. Su curso sobre “Enzyme Chemistry” fue crucial porque las enzimopatías se incorporaron rápidamente al espectro conceptual de la fisiopatología humana.

- No me puedo extender, pero quiero citar a José Rodrigo García con *“Al final todo fue posible...”*. Por cierto, me encanta porque la última colaboración de Luis Miguel García Segura se titula: *“No era un sueño imposible”*. Los mejores, los más “didácticos” son quienes dicen que los sueños, a veces, pueden transformarse

en realidad. Y ello se consigue, en buena medida, teniendo acceso a estas trayectorias vitales tan interesantes.

- Juan Antonio Subirana: *“Medio siglo investigando: los orígenes”*. Hace bien poco he tenido ocasión de hablar con Juan Antonio Subirana, que ha dejado en un campo muy particular de la bioquímica, el de las proteínas, una gran huella.

- Emilio Muñoz Ruiz. No me refiero a él porque va a hablar a continuación pero es también una persona que presenta *Madrid - Lieja - Nueva York - Madrid...* En otros casos, el mío por ejemplo, el trayecto era Barcelona -Tortosa -Madrid, mucho más modesto al principio, aunque después ya me vengué...

- Vienen ahora Rafael Sentandreu con *“La aventura de descubrir la investigación científica”*... y M^a Antonia Günther Novell y Antonio Sillero, *“Una pareja itinerante”* ... que ha sido muy importante para la continuidad de toda la obra extraordinaria, monumental, de Alberto Sols.

- Dña. Margarita Salas: *“La investigación científica como pasión”*. ¡Qué voy a decir yo de Margarita Salas si sigue siendo una persona angular, no sólo como científica! Pienso que el momento de la gran emancipación de la mujer está llegando. Será una inflexión histórica. Tengo que decir –no sólo por usted, Sra. Secretaria de Estado, sino en general- que el papel de la mujer es esencial y que es alentador que la Academia de Farmacia ya haya tenido una Presidente... Pero falta mucho camino por recorrer. No cabe duda de que Margarita Salas es una de estas figuras de especial representación de la mujer en la toma de decisiones.

- Don Emilio Gelpí, *“Investigador pese a...”*. Don Vicente Conejero Tomás, Dña. Consuelo Guerri Sirera, todos ellos con aportaciones muy importantes... y ya he mencionado antes el simbólico final de Luis Miguel García Segura: *“No era un sueño imposible”*.

Anhelos convertidos en realidad

Ha sido una mujer de gran relieve a escala internacional, la Presidenta de Brasil, Dilma Rousseff, quien ha dicho cosas tan convincentes como las del discurso que acaba de pronunciar el Presidente Obama en la toma de posesión de su segundo mandato. Cuando su investidura, Dilma Rousseff dijo que *“para transformar los sueños en realidad -que es lo que trata el último artículo de nuestro libro- tenemos que ser capaces de superar las líneas de lo posible”*. Creo que eso es algo que tenemos, también, que tener muy presente en nuestra vida cotidiana. Tenemos que saber que lo imposible hoy, puede superarse. Si no pensamos así no cumpliremos nunca los sueños. Cuando nos dicen que hay que ser realistas debemos contestar que no, que un realista nunca ha cambiado nada, porque acepta la realidad. Para cambiar la realidad, para transformar la realidad, lo primero que hay que hacer es pensar que la realidad de hoy, una realidad que muchas veces no nos gusta, como sucede ahora, es susceptible de modificación.

Que nada es inexorable. Otro futuro es factible ¿Por qué? Pues porque podemos superar las líneas de lo posible.

Quiero expresar mi gratitud a los patrocinadores de esta obra y el más sincero reconocimiento a la Real Academia de Farmacia que, una vez más, con este tipo de publicaciones no solamente favorece la relación de muchas personas con la Academia sino, además, contribuye al conocimiento científico y a la divulgación, lo cual, a su vez, es muy importante para la propia Academia. Ahora estamos en la época de lo virtual, pero a mi me gustan los libros: como anticipó Poncio Pilatos, “scripsi, scripsi”, *lo escrito, escrito* y todo ésto está escrito y está para leer y guardar después en los anaqueles para, de vez en cuando, revisarlo y recordar...

Me preocupa que los investigadores encuentren demasiado rápidamente aquello que les interesa. Internet es rápido y efectivo... pero no muestra, como cuando nosotros “hacíamos bibliografía”, un “gran espacio” cuyas referencias pueden iluminar la información concreta para ofrecer nuevas ideas.

Agradecimientos

A todos los participantes, patrocinadores, editora... quiero expresarles mi gratitud. *“Retroceso en el tiempo”*, en la postguerra civil, una postguerra en la que algunos hemos vivido momentos muy amargos pero, precisamente por eso, esta obra puede tener no sólo una función retrospectiva sino prospectiva. Aquel tiempo tan difícil fue también escenario de labor denodada, imaginativa. Por estas razones, me gusta que figure como subtítulo *“lectura para el futuro”*. Tiene, también, ya lo he indicado, una función aleccionadora para saber discernir lo que tenemos que conservar y lo que tenemos que cambiar.

He mencionado muchas veces una Conferencia de la Sociedad de Físicos de EEUU celebrada en el año 1999 en Atlanta. Como Director General de la Unesco iba a dar una conferencia y el que me presentaba, el Prof. Jensen, puso sólo una diapositiva que contenía una sola palabra: “inercia”. “Este es nuestro gran enemigo, exclamó, pensar siempre que cualquier cosa que cambiemos empeorará la situación”.

En el laboratorio del Prof. Hans Krebs estaba trabajando tarde un viernes. El Profesor vino a verme y me preguntó qué hacía allí a deshora. Le contesté: “Es que en Granada no tengo estos aparatos”. Me respondió: “A partir de ahora los viernes tampoco trabajará usted”. Pensé que me castigaba, pero él me dijo: “Lo que es preciso es que se reflexione más; los datos son muy importantes en la medida en que los enfoquemos y los miremos desde distintos ángulos”. Y añadió: “No olvide que investigar es ver lo que otros también pueden ver y pensar lo que nadie ha pensado”.

Este precioso libro ayuda a reflexionar porque se siguen las vicisitudes de los distintos participantes que, en condiciones tan difíciles, descubrieron cosas porque pensaron lo que nadie había pensado.

Quiero reiterar mi gratitud a Ana María Pascual-Leone, quiero felicitar de nuevo a esta Real Corporación por haber publicado este libro y decirles que espero que sean muchos los que se beneficien de su lectura. Hay también fotografías muy buenas. Lo que sucede con las fotografías es que, al comparar el entonces y el ahora nos produce cierta depresión, que superamos mirándonos más en las fotografías y menos en el espejo.

Muchas gracias, Ana Maria.

“FACTORES, POLÍTICAS Y REFLEXIONES”

Emilio Muñoz Ruiz

El proyecto

Es una idea feliz de Ana María, inspirada por la preocupación de la situación y armada sobre la autoreflexión de sus experiencias personales a lo largo de una trayectoria rica y variada.

Está movida por el entusiasmo y la voluntad de servicio hacia la comunidad investigadora, la sociedad y sus representantes sociales y políticos.

Es en mi opinión un ejercicio de una actividad emprendedora (el emprendimiento se da en lo público) y ejemplo de una positiva ejecución del liderazgo.

Hay obviamente elogios y críticas respecto al resultado. Entre los primeros cabe mencionar: su carácter no nostálgico (de ahí que me sienta satisfecho de haber sugerido en el título la referencia al futuro y gratificado por haberse incorporado al título esa sugerencia). Por cierto que me parece muy adecuada y oportuna la cita por Federico Mayor Menéndez en el prólogo al poema de Luis García Montero: “la verdadera nostalgia, la más honda, no tiene que ver con el pasado, sino con el futuro”. Por lo que respecta a las críticas, que podrán surgir desde fuera, hay que reconocer que la obra no está escrita por historiadores ni sociólogos de la ciencia, es resultado del impulso de una persona con vocación humanista: es en resumen, un trabajo en el que se recogen experiencias vividas, una historia de las memorias, una fórmula que personalmente aprecio mucho por los rendimientos que puede proporcionar y que defiendo.

Contexto socio-político en el que se desarrollan estas experiencias vitales

España estaba saliendo de una guerra civil, con ello se encontraba en situación no muy favorable para la promoción del desarrollo científico y técnico (tecnológico).

El CSIC jugó un papel importante- con sus condicionantes, sus circunstancias, sus problemas, dificultades y altibajos-. Para ello Don José María Albareda, su creador y Secretario general durante más de 25 años, es decir desde la fundación del Consejo hasta su muerte en 1966, fue capaz de ir orillando dificultades burocráticas y presupuestarias para establecer unas escalas en el CSIC que abrieron la oportunidad a la dedicación profesional a la investigación científica y técnica. Inicialmente fueron las de colaborador e investigador científicos, a las que se incorporó posteriormente la de ayudante científico. Más tarde, en la época de Manuel Lora- Tamayo como ministro, fue cuando se afrontó el reconocimiento funcional de estas escalas cambiando además los nombres a Colaborador Científico, Investigador Científico y Profesor de Investigación, buscando la continua, y ansiada siempre por el personal del CSIC, equiparación o analogía con la situación profesional y los escalafones del profesorado universitario. Después, se cambió el nombre de la primera de las escalas citadas por el de Científico Titular, de nuevo siguiendo la tendencia hacia la similitud con la situación en la universidad. Todos los que han contribuido a este libro y han pertenecido o pertenecen al CSIC han pasado por y aprovechado la existencia de estas escalas.

Uteriormente, la organización administrativa de la gestión de la ciencia experimentó un importante cambio con la creación de la Comisión Asesora de investigación Científica y Técnica (CAICYT), organismo creado en 1958, dependiente del Ministerio de la Presidencia, para encargarse de la planificación de la política científica y tecnológica. Su primer presidente fue Manuel Lora-Tamayo y contó en su historia con otros cuatro: J. Martínez Moreno, E. Gutiérrez Ríos, Federico Mayor Zaragoza y Carlos Sánchez del Río. Al principio, la CAICYT estuvo muy ligada al CSIC, estando la secretaría ocupada por el Secretario General del Consejo, si bien posteriormente con el establecimiento del Fondo Nacional para el Desarrollo de la Investigación Científica y Técnica(FONDICYT) se empezó a independizar la CAICYT que con los Planes de Desarrollo, inició la concesión de subvenciones por mecanismos de la presentación de proyectos y criterios competitivos. En 1979, la CAICYT pasó a depender del Ministerio de Universidades e Investigación, un ministerio de corta vida pero de relevancia para el futuro de la organización de la administración de la ciencia y la tecnología.

Atribuciones de la responsabilidad ministerial en ciencia y tecnología en la segunda mitad del siglo XX

Todo este período se caracterizó por una tasa importante de recambio en los ministros responsables de las políticas de ciencia y tecnología.

Durante el periodo del CSIC con la Secretaría General en las manos de Albareda, las políticas de ciencia y tecnología permanecieron bajo la tutela del Ministerio de Educación Nacional, coexistiendo con la CAICYT que iba lenta pero inexorablemente aumentando su protagonismo. La llegada de Manuel Lora-Tamayo marcó un punto decisivo en la inflexión de las responsabilidades ministeriales, primero como Ministro de Educación Nacional empezó a tomar iniciativas, inició contactos con la OCDE que efectuó una primera evaluación de la política científica en España, y a partir de ese proceso se cambió el rótulo del Ministerio a Educación y Ciencia (Lora-Tamayo fue uno de los ministros, pocos, que dimitió durante el periodo de gobiernos del General Franco): salvo pequeños paréntesis, esa denominación ha permanecido hasta 1996 y bajo ella, los ministros han asumido las competencias en la promoción de la Ciencia y la Tecnología. A lo largo de este periodo, nuestro colega y compañero en esta presentación, Federico Mayor asumiría importantes responsabilidades, a pesar del largo periodo en la Dirección General de la UNESCO, primero como Adjunto y luego como Titular.

Relación de ministros y algunos cargos

José Luis Villar Palasí (1968-1973), en la primera etapa ocupa la Subsecretaría Ricardo Díez Hochleitner que contribuyó decisivamente a importantes cambios con la Ley General de Educación, la creación de las Universidades Autónomas de Madrid y Barcelona, y se inician contactos con Severo Ochoa para la creación del Centro de Biología Molecular.

Julio Rodríguez (1973-1974), de infausta memoria, ocupó la cartera solo meses, se opone a los contactos con Severo Ochoa. Tras el asesinato del almirante Carrero, es cesado.

Cruz Martínez Esteruelas (1974-1975); Federico Mayor asume las competencias de la Subsecretaría y acepta el papel de autoridad y mediador para reanudar la gestación del Centro de Biología Molecular

Carlos Robles Piquer (1975-1976)

LA TRANSICIÓN

Aurelio Menéndez (1976-1977)

Asume la Presidencia del Gobierno Adolfo Suárez

Iñigo Cavero (1977-1979), Carlos Sánchez del Río en la Presidencia del CSIC, crisis de la institución

(1979-1981) División del Ministerio, Educación, José Manuel Otero Novas

Universidades e Investigación, Luis González Seara

Presidencia Gobierno: Leopoldo Calvo-Sotelo

Juan Antonio Ortega y Díaz-Ambrona (1981-1982), Educación recupera Universidades e Investigación

Federico Mayor (1982) reinstaura el nombre de Ministerio de Educación y Ciencia

Gobiernos del PSOE (Felipe González)

Ministros de Educación y Ciencia: José María Maravall (1982-1988)

Javier Solana (1988-1992)

Alfredo Pérez Rubalcaba (1992-1993)

Gustavo Suárez Pertierra (1993-1995)

Jerónimo Saavedra (1995-1996)

Gobierno del PP (José María Aznar)

1996-Desaparece la Ciencia del Ministerio de Educación y Cultura: Esperanza Aguirre

Mariano Rajoy

Se crea la OCYT (Fernando Aldana)

El libro

Además de la Presentación de la Dra. María Teresa Miras, el Prólogo del Dr. Federico Mayor Menéndez y la Introducción y el Epílogo que corren a cargo de la Dra. Ana María Pascual-Leone, hay 20 capítulos que corresponden a cuatro generaciones.

Primera Generación: José María Segovia, Gertrudis de la Fuente, Julio Rodríguez Villanueva y Gabriella Morreale [Tuvieron que partir de cero, fueron pioneros, crearon].

Ana María Pascual- Leone (Intermedia)

Segunda Generación: Claudio Fernández de Heredia, Federico Mayor, Pilar González, Bartolomé Ribas, Rosario Lagunas, José Rodrigo, Emilio Muñoz, María Antonia Günther y Antonio Sillero, Rafael Sentandreu , Margarita Salas[Diversificaron; evolucionaron porque partían de algo ya existente y que ofrecieron los maestros como: Ángel Santos Ruiz, Alberto Sols, J. Rodríguez Villanueva, Instituto Ramón y Cajal].

Integrantes de esta generación, Juan Antonio Subirana y Emilio Gelpí se les puede calificar de creadores, Vicente Conejero, aunque partió de lo establecido por Eduardo Primo Yúfera, también tuvo que generar nuevas iniciativas.

Tercera Generación: Consuelo Guerri y Luis Miguel García Segura

Contribuciones

Entiendo que no es posible hacer un análisis completo y exhaustivo de las contribuciones: no son homogéneas, no lo pueden ni quizá deben serlo, a pesar de que la editora hizo un esfuerzo importante enviando, supongo que a todos, unas preguntas para orientar las presentaciones. Todas las contribuciones tienen sus valores y merecen igual interés y atención.

Para ofrecer una vía constructiva a esta presentación para ustedes y para mi propia reflexión, he tratado de plantear el análisis del contenido del libro con la idea de que pudiera llegar a alguna conclusión que contestara a la pregunta que me vengo haciendo desde hace tiempo: ¿Tiene sentido un estatus funcional para la investigación y para los investigadores? Y por otro lado, tratar de ver si tiene sentido aplicar un concepto que he acuñado a partir de reflexiones propias, contrastadas con expertos que trabajan en el campo del emprendimiento social, y que es el de “empresarios públicos”.

Para ello, he puesto especial cuidado en recorrer con particular atención las partes finales de cada contribución en la que suelen recogerse las reflexiones, las evaluaciones de lo que se ha conseguido y las proyecciones de por dónde se debería transitar. Personalizo la selección pero quiero advertir que la mayor o menor extensión dedicada a cada una de las presentaciones no supone ningún grado de importancia o valor, simplemente está asociada al contexto de lo que se quiere subrayar.

José María Segovia: su currículum y su trayectoria son claros ejemplos de construcción y de iniciativas innovadoras para el desarrollo de la investigación biomédica en España y para avanzar hacia una medicina mejor. Dice el Profesor Segovia, “Aunque es mucho lo que se ha avanzado, aún es poco para lo que el país necesita”. Un ejemplo de “emprendimiento público a lo largo de una vida”.

Gertrudis de la Fuente: un ejemplo siempre para quienes hemos tenido la fortuna de conocerla. En el texto nos ofrece una buena lección sobre lo que es una publicación que ahora llamamos de excelencia. “complementariedad, interdisciplinaria, conocimiento experto (“expertizaje”) en campos diversos y que además usan instalaciones y equipamientos de alta especialización”

Apunta a que “es necesario profundizar en un campo, crear equipos y Centros que deberían cambiar de un investigador con varias líneas a varios investigadores con una línea”, es decir plantea la conveniencia de establecer masas críticas.. Hay capacidad creativa, y sentido de la estrategia en lo que acabo de destacar.

Julio Rodríguez Villanueva: una de las personalidades con mayor éxito como creadores de escuela en el campo de la investigación biológica en nuestro país. En su entrevista hace un merecido reconocimiento al papel de su esposa, Isabel García

Acha, de lo que doy cumplida fe como beneficiario de su sabiduría y cuidado en la gestión de grupos de investigación. Señala que “ investigación es dedicación e ilusión” en línea con lo que ha comunicado la recientemente fallecida Rita Levi-Montalcini -de la que hemos tenido una emotiva necrológica de Federico Mayor-, la gran neurocientífica y comprometida ciudadana en su libro autobiográfico “ *Elogio de la imperfección*” (cuya lectura recomendaría a los políticos) .

Gabriella Morreale, la introductora de la endocrinología molecular en nuestro país, reconociendo igualmente el importante y admirable papel jugado por su marido, Francisco Escobar del Rey. Subraya la enorme importancia del ambiente familiar y descarga algunas críticas sobre un vicio que yo reconozco en la sociedad española; nos dice “El pecado capital era la envidia, la dificultad de encontrar reconocimientos” y enumera una serie casos en los que esta ausencia de reconocimiento son y han sido en su opinión manifiestos. Describe además una triste experiencia vivida cuando trabajaban ya jubilados en la determinación de los niveles de hormonas tiroideas prestando un gran servicio médico y social, quizá conmovida por una especial circunstancia vital.

Ana María Pascual-Leone, pionera de la investigación sobre el desarrollo perinatal con el reconocimiento nacional e internacional y en mi opinión otra gran emprendedora pública. Destaca el ambiente familiar como el factor fundamental para su carrera y subraya algunas de las trabas burocráticas experimentadas y que cifra en la situación de la jubilación, preocupaciones de las que fui testigo porque vino a contarme esos problemas. Pone de relieve además el papel decisivo de un parlamentario sensible, el Dr. Marcelo Palacios investigador médico él mismo y además uno de los grandes interesados por la Bioética en España, en los pasos que ayudaron a la resolución del conflicto.

Claudio Fernández de Heredia, ejemplo de investigador capaz de cambiar en su línea de investigación sin temor y sin detrimento de la calidad. Concluye a partir de experiencias personales que la “investigación requiere para su desarrollo como condición indispensable una dedicación plena y un grado no menor de ilusión y vocación atraídos por el deseo de saber. Todo ello integrado en una estructura social que ponga a disposición del investigador los medios y el ambiente para que puedan fructificar vocaciones científicas”

Federico Mayor, nos acompaña llevando consigo una carrera absolutamente extraordinaria de servicio a la universidad, a la ciencia, al humanismo, a las sociedades, con una gran proyección internacional. Por su presencia y en su presencia, no voy a comentar su contribución que ha aprovechado para hacernos un detallado relato autobiográfico. Solo recordar la última frase “Me interesa más saber quien soy que cómo soy”.

Pilar González, un ejemplo vivo de la ilusión por la investigación, capaz de practicarla hasta la jubilación con entusiasmo denodado y yendo más allá. En ese proceso sufrió decisiones burocráticas que saldó por ese entusiasmo y gracias a la comprensión de directivos investigadores. La pregunta, pido excusas si suena a demagógica, que se me ocurre es ¿qué hubiera ocurrido si la decisión hubiera dependido de un abogado del Estado?

Bartolomé Ribas, nos ofrece una contribución que destila entusiasmo para ir desgranando condiciones y características que adorna la profesión investigadora y lo hace con tonos líricos y resonancias éticas. Nos habla de: “Conciencia universal, actitud abierta, valor de la persona humana. Reconoce el papel de los líderes como factor de atracción. Destaca la colaboración, la armonía, y la ayuda mutua. Entre las condiciones para el ejercicio profesional, señala: la dedicación exclusiva, la búsqueda de la verdad, la libertad como (factor) esencial y el trabajo en equipo”.

Rosario Lagunas, otro ejemplo de entusiasmo. Expresa el: “reconocimiento a la vocación (había que contrapesarla a sueldos miserables y medios casi inexistentes), el reconocimiento asimismo a los pioneros (que relaciona): Sols, Morreale, Escobar, Losada, Rodríguez Villanueva así como una mención a David Vázquez como importantes “atractores “de jóvenes a la investigación científica. Personalmente atribuye un papel decisivo a lo que recibió en su juventud de valiosos profesores y enseñanzas. Expresa su satisfacción por haber logrado compatibilizar la vida profesional con la vida familiar (lo que ahora se llama conciliación), satisfecha del resultado con los hijos”.

José Rodrigo, la contribución del Dr. Rodrigo, un cajalano o cajalista de corazón, no ofrece sorpresas en lo que respecta a la vía por donde circulan sus reflexiones y sus nostalgias del futuro.

Sacar alguna de éstas a la luz, me parece de una pertinencia y de gran actualidad para contrarrestar el discurso político dominante en España sobre la investigación y los investigadores.

“ Hoy podemos afirmar rotundamente que el estatus alcanzado por el Instituto Cajal se debe al trabajo, al sacrificio, a la austeridad, a la dedicación y a la fe ciega en el futuro de aquellos que navegaron en las aguas turbulentas pasadas y llegaron a puerto para entregar el testigo a los científicos que forman hoy esta institución. En la actualidad nuestro Centro ha superado las previsiones realizadas en 1985 cuando se planificó construir el nuevo Instituto Cajal en la calle de Doctor Arce”.

Termino aquí la cita, aunque daría para mucho más el texto de este neurocientífico, para añadir una apostilla personal: esa decisión de planificar un nuevo edificio surgió de un profundo y novedoso, para la época y las costumbres

españolas, proceso de evaluación y proyección estratégica del Instituto, en profunda crisis en 1980, y gracias al reconocimiento de que España no podía abandonar, permitirse la aniquilación de un Instituto Cajal, fundado y bautizado por el genio que fue Santiago Ramón y Cajal, que hizo un gran presidente del CSIC, Alejandro Nieto, Catedrático de Derecho Administrativo. He tenido la fortuna de acompañarle como Vicepresidente, y gracias a su visión de crear, por primera vez en la historia del CSIC, el portafolio de “política científica” y la generosidad de encargármelo, me llevó a que tuviera que ocuparme de la operación “rescate” del Cajal, una de las gestiones más fascinantes de mi vicepresidencia.

Juan Antonio Subirana, su trayectoria es un ejemplo de esfuerzo, tenacidad, imaginación para, a partir de la química y la ingeniería, introducir en España la Biología Molecular, demostrando además que la cooperación entre dos científicos, él y su amigo Jaume Palau- desgraciadamente desaparecido tempranamente- era posible en España. Fue capaz de catalizar la generación de “empresas públicas”, en el sentido más generoso y público del término, que iban a tener reconocimiento internacional.

Transcribo unas palabras de su contribución que me parecen fundamentales para debatir algunas de las líneas básicas del discurso oficial sobre la investigación en España: “Durante medio siglo he tenido la oportunidad de dirigir 36 tesis doctorales. La mayoría de los doctorandos provenían de las Facultades de Ciencias. Analizando la trayectoria de estas personas he constatado que únicamente una tercera parte podían considerarse investigadores y han seguido una carrera científica. El resto se han dedicado a la docencia o han encontrado un trabajo en empresas, algunos en puestos de gran responsabilidad. Esta proporción se ha mantenido a lo largo de los años. Las circunstancias políticas y económicas no parecen haber afectado de un modo esencial el número de vocaciones científicas”.

Sin embargo dice: “Por otra parte la penuria económica de la postguerra española afectó evidentemente el número de vocaciones científicas. Incluso en la década de los 60 era difícil conseguir becas para realizar el doctorado. La situación fue cambiando gradualmente y pienso que poco a poco todos los que tenían una vocación científica podían llegar a materializarla”

Aquí lanzo una apostilla personal. Parafraseando la frase atribuida a Clinton de: “Es la economía, estúpido”, diría: “Son las políticas, políticos”.

Sobre las aventuras científicas de Subirana y Palau , acaba de aparecer un libro, la tesis doctoral de Xavier Calvó, titulado *“Biopolímeros e instrumentos. De la Química a la Biología Molecular en Barcelona (1958-1977)”* “en la colección” Estudios sobre la Ciencia” del CSIC.

Rafael Sentandreu, el Dr. Sentandreu ha sido uno de los disciplinados que ha elaborado su contribución respondiendo a las preguntas orientativas que remitió la editora. Es una contribución plena de buen sentido, de reflexión sobre lo que supone ser investigador, de cómo formarse, de sincero reconocimiento a Julio Rodríguez Villanueva, después de evocar los primeros contactos con Vicente Villar Palasí, de trabajar en la farmacia del hospital donde trabajó Sir A. Fleming, y de regresar a Madrid por mor del servicio militar. Allí tuvo también un primer contacto con Federico Mayor que estaba preparando su acceso a cátedra y con María Cascales.

Termino con una frase suya: “Parece (que) la sociedad española y especialmente los políticos no están preparados para reconocer el trabajo del investigador ya que ante cualquier crisis económica son los recursos asignados a la ciencia los primeros que son reducidos o eliminados”.

María Antonia Günther y Antonio Sillero, a los que podíamos calificar como la pareja itinerante, trabajan en colaboración desde hace más de cuarenta años.

En su contribución hay una detallada y atractiva descripción de ese proceso de itinerancia, prestando como ellos mismos dicen “más atención a los distintos ambientes de trabajo vividos que a su trayectoria científica”. Ocho instituciones han albergado sus objetivos: “tratar de descubrir (o simplemente aclarar) alguna de las innumerables facetas que ofrecen los seres vivos. Las facetas son tantas, tan diversas y sin embargo tan interrelacionadas que permiten todas las posibles miradas que cualquier persona o investigador pueda dedicarles”

Recomiendo la lectura de este capítulo a cualquiera que esté tomando decisiones sobre los investigadores atribuyéndoles la condición de “funcionarios”. Avanzo aquí una de mis conclusiones, existe un error histórico en considerar a los investigadores como “funcionarios”, con todo respeto y admiración hacia ese estatus. Pero nada corresponde en la misión y objetivos de los investigadores a los de los funcionarios, estando éstos mucho más relacionados con el servicio y apoyo directo al público, encargados de cumplir con las normas y actuando alrededor de lo que se conoce como burocracia. Sin embargo, a los investigadores que trabajan en el sector público se les puede considerar como “servidores y emprendedores públicos” que realizan actividades intelectuales y experimentales de modo sistemático con el propósito de aumentar el conocimiento de una determinada materia.

Hay más emprendimiento en las trayectorias de esta pareja que en miles de empresarios del panorama español.

Margarita Salas, también ha sido una de las disciplinadas que han construido su contribución sobre las preguntas preparadas por la editora.

Se configura de este modo un relato riguroso, metódico, de una trayectoria admirable en el que se destacan valores como la motivación, el entusiasmo, la formación, el rigor junto con el empleo sabio de la imaginación; se reconocen como básicos el soporte económico y el trabajo en equipo. Subraya además que la dedicación exclusiva a la investigación que proclama y defiende ,no le ha impedido conciliar su vida de investigadora a su condición de ser humano en los aspectos personales y culturales, amén de haber obtenido excelentes resultados económicos con una patente que se hizo en 1989 coincidiendo con mi etapa en la Presidencia del CSIC. Y sobrevolando sobre esta trayectoria, la evocación a Eladio Viñuela, su compañero y mentor, a quien calificué en la contribución a un libro que se editó con motivo de su temprana y sentida desaparición, como “empresario científico”

Emilio Gelpí, mi homónimo no ha sido de los disciplinados, sino que ha aprovechado la ocasión para ofrecer un detallado, y creo que riguroso, relato de las vicisitudes de su vida como investigador, de contar una interesante aventura que le lleva al título de la contribución: “Investigador pese a...”.

Como apuntaba hay mucha información rigurosa pero también apasionada en este texto que debería ser de lectura obligada para quienes laboran en el diseño y gestión de las políticas científicas.

De nuevo insisto en mi diagnóstico: hay mucho emprendimiento, esta es la carrera de un empresario público o emprendedor científico. Entresaco algunas frases del último párrafo:

“Llegado a este punto... pienso que de la lectura de este escrito habrá quien se pregunte porque he aguantado tanto y si ha valido la pena. Visto en perspectiva creo que sí. Mi sueño de juventud había sido poder luchar contra las enfermedades humanas. No sabía bien cómo pero a fuerza de voluntad y determinación el camino se fue definiendo mientras lo recorría (y aquí viene la obligada cita machadiana de la que hago gracia). Hoy los parámetros de la investigación biomédica y traslacional están claramente definidos y me siento satisfecho de haber participado en la gestación de este tipo de investigación en nuestro país. También de haber influido en algunos jóvenes... y de haber puesto en marcha líneas de investigación básica... que si han resultado útiles en investigación biomédica... Por ello me reafirmo en mis convicciones (de) que la investigación biomédica de excelencia tiene que ser multidisciplinar, libre de cargas administrativas, traslacional y bien financiada ya sea a través de fondos públicos o privados”.

Vicente Conejero, muchas de las cosas que expresa el Profesor Conejero son dignas de ser recogidas y expuestas.

Llega a este libro por la invitación recibida de la Dra. Pascual-Leone para mostrar un contrapunto desde la investigación agroquímica y para poner de manifiesto las grandes cualidades que Eduardo Primo Yúfera poseía para el

ejercicio de la investigación: mente analítica y crítica, buena memoria, imaginación creativa, ilusión por el descubrimiento, y sentir la necesidad de situarlo en el contexto en que se mueve, además de tesón.. Como reconoce que es muy difícil reunir todas esas cualidades en una sola persona, recuerda que para eso están los equipos..

Pero además señala que todo lo anterior con ser mucho, no es suficiente porque se necesita el apoyo de quienes te rodean, empezando por la familia y los compañeros, así como la recompensa de la consideración social, incluyendo el soporte económico de empresas e instituciones, sin el que la Ciencia y la Tecnología no serían posibles.

Su relato es la vez optimista y pesimista. El título “Hubo un tiempo para la esperanza, pero la casa estaba construida sobre arena” y el del primer apartado: “Orfandad socio-económica e institucional de la Ciencia y la Tecnología en nuestro país. Un clima adverso para la ciencia” hablan por sí mismos.

Termina diciendo. “Pero como no estoy haciendo oposición, ni el caldo gordo a nadie, no quiero seguir teniendo razón por más tiempo. Mi único deseo firme y ferviente es que cese la tormenta y que nuestro país se construya de una vez por todas como la casa de la parábola evangélica sobre peña... para que no se derrumbe nunca más, con el primer vendaval que la azote”. Para eso hace propuestas como que la formación humanística incorpore estudios sobre historia de la ciencia a lo largo de las enseñanzas y que el inglés atravesase todos los niveles educativos.

Llegamos al tuno de los dos representantes de la siguiente generación que ha incorporado Ana María Pascual-Leone al libro. Son: *Consuelo Guerri* y *Luis Miguel García Segura*.

Sus historias demuestran que en este ámbito de la actividad humana, como en tantos otros, se viven situaciones y se recorren espacios de forma cíclica. Están presentes las invocaciones a la vocación, a la ilusión, a la dedicación, a la pareja (el caso de Consuelo con Vicente Rubio), a la necesidad de militar para transmitir a los políticos y a los ciudadanos que el gasto en ciencia es inversión necesaria, que la ciencia es sinónimo de cultura.

Luis Miguel trae a colación el mito de Sísifo y lo desarrolla con detalle y acierto para buscar las analogías con la fluctuación de la investigación en España. Personalmente, me alegra la convergencia evolutiva intelectual pues hace una década yo recurrí a ese mito para referirme al mismo tema (entre otros artículos, acabo de comprobar precisamente mientras trabajaba en esta presentación que esta presente en uno titulado: “Política científica y tecnológica en España :Un siglo de intenciones”, publicado en la revista *on line Ciencia al Día Internacional*, vol. IV,

nº1, Abril, 2001, al que se puede acceder en Internet, pinchando en Google, Ciencia al día internacional).

Apunte personal

Antes de terminar con un apartado de conclusiones, quiero hacer una breve referencia a mi contribución en el libro. Es híbrida porque se ha basado en las preguntas preparadas por la editora pero se ha escrito como texto corrido, no como entrevista.

En él se ha tratado de poner de relieve una carrera que en lo científico ha perseguido abrir líneas de investigación no desarrolladas en España hasta ese momento, procurando para ello y para tener éxito en la proyección sacar ventajas de la internacionalización, así como buscar la interdisciplinariedad, una obsesión en mi vida, tema que ahora por fin está de moda (a este respecto, indicar que pronto aparecerá un artículo titulado “Conocimiento biológico y mestizaje; siguiendo autobiográficamente el camino de la interdisciplinariedad” en un libro editado por Marta Isabel González y José Antonio López Cerezo con la editorial Biblioteca Nueva). Finalmente he explorado las relaciones entre la ciencia, la tecnología y la sociedad (estudios CTS), temas que vienen ocupando mi actividad investigadora a lo largo de las dos últimas décadas. Quiero señalar que el texto presenta la peculiaridad de ser muy abundante en bibliografía mía, por especial decisión de la editora que ha querido con ello que se vieran reflejadas mis distintas etapas y sobre todo que se aportara mucha información publicada sobre esta última etapa, que ha seguido a mis doce años de gestión en las políticas e I+D. Reconozco que he publicado mucho, quizá demasiado en la línea de estos estudios CTS y como es difícil encontrar una recopilación de ello, he agradecido y aprovechado la propuesta.

Conclusiones

La primera que no se desprende del contenido del libro, sino de la parte dedicada en esta presentación al contexto y la relación de los responsables de las políticas de ciencia y tecnología en España, es constatar la fragilidad de su entramado institucional a juzgar por la elevada tasa de reposición en los altos cargos y en la diferente capacidad y conocimiento sobre los temas. Hay un periodo de una cierta estabilidad, el de 1982-1988 y la etapa 1988-1992. Todo ello sin dejar de evocar el papel fundamental jugado por Federico Mayor en periodos complejos y de inestabilidad, en los que fue, voy a acudir a metáforas, aunque quizá no hagan justicia de lo fue su tarea: o bien suministró cemento para fortalecer las estructuras, o bien fue el hilo que permitió que se engarzaran las piedras de valor que iban surgiendo en el panorama científico y tecnológico español.

La segunda, y para mi fundamental, es que a la investigación y a los investigadores no se les pueden aplicar criterios esencialmente burocráticos en lo que tanto para lo bueno como para lo malo tiene la connotación de Funcionario y el peso que sobre ellos tiene el Ministerio de Administraciones Públicas .

Llevo años, décadas, combatiendo esa situación, herencia de una situación coyuntural en que había que dar reconocimiento administrativo, dentro del sector público, a la profesión de investigador científico y que fue utilizada sin duda oportuna y sabiamente por el Ministro Lora-Tamayo. Pero las condiciones de contexto han cambiado mucho y así deberían haber evolucionado las condiciones de la carrera profesional de los que trabajan en investigación si existieran culturas: científica , tecnológica e innovadora, entre los políticos y los decisores administrativos, incluyendo a nuestros parlamentarios. Incluso en la propia sociedad, aunque hoy hay datos demoscópicos alentadores a este respecto, ya que las encuestas de valoración de las instituciones han venido reconociendo a los científicos con muy altas puntuaciones, generalmente ocupando el segundo lugar tras los médicos a los que han sobrepasado en la última de la que tengo conocimiento, publicada a final de año en el periódico *El País*. Estimo que estos datos justificarían plena y socialmente decisiones en la dirección de crear un estatuto especial para los científicos.

Pero cuando mi batalla alcanzó el punto culminante fue durante el debate articulado alrededor de la elaboración de la nueva Ley, recientemente aprobada y ya vigente, la denominada Ley de la Ciencia, la Tecnología y la Innovación. Tuve la oportunidad gracias a la generosidad de la ministra Doña Cristina Garmendia de formar parte del Comité de Expertos que trabajó en la elaboración de la Ley. Hubo mucho esfuerzo respecto a este tema y todo en vano. En un debate posterior, celebrado en la sede de un partido político, que fue dirigido y presidido por el entonces Secretario de Estado de Investigación, D. Felipe Pétriz, volví a repetir mi reflexión y mi reclamación. El Secretario de Estado concluyó, si no me falla la memoria, “Emilio Muñoz no quiere ser funcionario”. Creo que la conclusión no era muy acertada, ya no ha habido más intervenciones y la ley está ahí, en lo que considero una nueva oportunidad perdida pero aprobada unánimemente por el Parlamento. Tengo muy claro lo que reclamo y que considero sería una contribución interesante para el proyecto de una España que dice- que dijo sería más exacto decir si se me permite el retruécano porque ya parece haberse olvidado- que quiere cambiar el modelo productivo.

Por cierto un comentario respecto a lo de la condición de “puesto de por vida”, esa es la situación que se alcanza en Estados Unidos cuando alguien que ha seguido el “tenure track,” lo supera y consigue el “tenure”, alcanza la estabilidad de por vida en la institución en la que lo ha realizado.. Un país que no cree en la estabilidad de los puestos y patria del liberalismo bien entendido creó una fórmula

especial para quienes laboran en el campo de la producción del conocimiento. Parece que en España las excepcionalidades son para otros y no digo más para no caer en la demagogia. *Precisamente en el número de diciembre de 201, de la revista de la SEBBM, hay una entrevista al Premio Nobel de Química 2009, Venkatraman Ramakrishnan, donde declara, tratando el tema de los recortes , que hay que mantener una financiación estable, una vez decidido el nivel que un país quiere dedicar a financiar la ciencia. Lo que todo científico necesita es estabilidad. Los investigadores sacrifican a menudo salarios mejores a cambio de su vocación. Y todo lo que reclaman es estabilidad.*

No creo que nadie que lea este libro con espíritu abierto, describa ninguna de las carreras descritas como la de un funcionario en el sentido del noble ejercicio de la burocracia. Estimo que se ajustan más al concepto de “empresarios públicos” y/o “emprendedores científicos”.

Respecto a la excelencia, concepto con el que estoy esencialmente de acuerdo y que he intentado perseguir en mi vida, probablemente con poco éxito, además de haber escrito sobre él y haber dictado alguna conferencia sobre el tema, quiero matizar algo. Entiendo que es un concepto relativo y, por lo tanto hay que contextualizar y relativizar. La excelencia aplica lo mismo para quien compite por ganar un maratón que para quien lo hace para terminar el primer maratón de su vida: los dos pueden ser excelentes.

No es lo mismo buscar la excelencia en I+D+i (I) con una inversión por investigador y mes de 10 dólares, que de 100 dólares, de 1000 dólares o de 10000 dólares.

A tenor de lo que hemos podido extraer de este libro, se puede uno preguntar razonablemente si la mayor parte de las ejecutorias aquí descritas no han alcanzado la excelencia para un país, para un entorno concreto y para un sistema de ciencia y tecnología determinado. Me atrevo a decir que sí y que esto mismo ocurre y puede ocurrir en otros contextos. Por lo tanto, aún teniendo mucho valor los datos cuantitativos y los análisis bibliométricos, no hay que sacralizar las métricas, sino que hay que relativizar, hay que buscar índices, hay que recurrir a las fracciones y por lo tanto a colocar un numerador frente a un denominador. Con el mismo atrevimiento, no me duelen prendas para declarar que Ángel Santos Ruiz, Alberto Sols, David Vázquez y Eladio Viñuela han sido excelentes con mayúsculas, independientemente de la posición que alcanzaran en un ranking simplemente cuantitativo; los cito porque, desgraciadamente, ya nos han dejado, pero lo mismo podría hacer con otros todavía vivos afortunadamente.

Por último, ahora que estamos en período de crisis y estrategias, propongo que se financie un proyecto interdisciplinar que, de modo innovador, afronte el estudio de la situación de la investigación biomédica en España y lo que ha

supuesto para la medicina traslacional asimismo en España. Sería un trabajo de interés estratégico potencial y un homenaje al Profesor José María Segovia de Arana.

Nutrición y felicidad



Francisco Sánchez Muniz

Académico de número

*Toma de posesión como académico de número de la Real Academia Nacional de Farmacia. Sesión científica celebrada el 13 de junio de 2013.
An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 331-357*

DISCURSO DE RECEPCIÓN DEL EXCMO. SR. D. FRANCISCO SÁNCHEZ MUNIZ

SALUDO DEL ALBA

¡Cuida bien de este día! Este día es la vida, la esencia misma de la vida. En su leve transcurso se encierran todas las realidades y todas las variedades de tu existencia: el goce de crecer, la gloria de la acción y el esplendor de la hermosura.

El día de ayer no es sino un sueño y el mañana es sólo una visión. Pero un día bien empleado hace de cada ayer un sueño de felicidad y de cada mañana una visión de esperanza. ¡Cuida bien, pues, de este día!

(Del Sánscrito, en Diario de poeta y mar, Juan Ramón Jiménez)

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia, Excmos. Señoras y Señores Académicos, Autoridades, señoras y señores, amigos todos.

Hoy es sin duda un día especial en el que se encierran todas las realidades y todas las variedades de mi existencia: el goce de crecer, la gloria de la acción y el esplendor de la hermosura del momento. Hace más de seis años, en una noche de noviembre, accedí como Académico Correspondiente a esta insigne institución. En aquella ocasión me acompañaron también muchos amigos y compañeros, mis familiares entre ellos se encontraba mi padre. En esta ocasión no ha podido ser, por eso quiero darle en esta noche tan especial, con todo mi cariño, un homenaje merecido. A él le concedió recientemente el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Huelva la carabela Pinta en su categoría de plata; hasta esa fecha ningún colegial había recibido tan notable distinción.

De manera similar a muchos de los discursos de ingreso a esta Academia, deseo hablar de emoción, de alegría y de la responsabilidad que en mí se generan ahora y en este lugar. Alegría por lograr pertenecer a un círculo, que como se manifestó en el discurso de inauguración del año académico de 2013, reúne a autoridades de enorme prestigio y reconocida actividad y fecundidad científica en las ciencias propias y afines a la Farmacia. Es por tanto que comienzo mis palabras agradeciendo y recordando. No hay felicidad sin compartir, sin recibir, sin transmitir un espíritu de colaboración y de entrega que sintoniza con lo que es ciencia, amistad, conocimiento, en el deseo de contribuir a la Farmacia, a la salud y a la propia Felicidad.

Cuando me llegó la noticia de mi nominación a la medalla 19, reconocí que ocuparía la silla de mi antecesor, el Excmo. D. Antonio Doadrio López. Nacieron en mí una mezcla de señales, un coctel de alegría, recogimiento, pequeñez, ansiedad y responsabilidad, difícil de integrar. Mis queridos todos, ni más ni menos que D. Antonio, Maestro, Profesor, hombre insigne, Decano y Académico de número. D. Antonio, persona inolvidable para mí y para la ciencia farmacéutica, sembrador de valores. En su hijo Antonio, tiene esta Academia un puntal que merece todo reconocimiento, fue Antonio hace ocho años el que me empujó a las puertas de esta Academia. Antonio, muchas gracias. Hoy es día de San Antonio por lo quiero felicitar a todos los Excelentísimos Académicos que se llaman Antonio y a todos los Antonios que se encuentran en este foro o que posiblemente puedan estar escuchándome on-line.

Quiero agradecer y recordar a los que desde hoy serán mis compañeros en mi deambular por la Academia y han tenido a bien avalar mi candidatura: los Excmo. Bernabé Sanz, María Cascales y Fidel Ortega. Contar con el apoyo y aval de Bernabé ha sido para mí una satisfacción enorme. Siempre me trató con respeto y en los últimos años como a un amigo. Cualquier conversación con él es enriquecedora y más aún en temas sobre alimentación. Yo sabía que de él podría aprender mucho, como también lo hice de mi iniciador y maestro en el campo de la Nutrición D. Gregorio Varela del que aprendí a amar al aceite de oliva, a la fritura, a la dieta mediterránea, a disfrutar con la comida. D. Gregorio era uno de los individuos más dicharacheros y listos que he conocido, vendía como nadie lo que hacía ya que le ponía ganas e ilusión.

A María Cascales la conocí en la Facultad de Farmacia de Madrid, hace 40 años cuando los miembros de los departamentos de Fisiología y Bioquímica intercambiábamos conocimiento. María me ha dado apoyo, amistad que unidos a mi profunda admiración por lo que hace, por su riqueza científica y emprendedora, me llevó a hablar con ella y pedirle su aval. También quiero agradecer a Fidel Ortega su apoyo y confianza: él sigue la línea de su padre como persona, confiando

y dejando que se confíe en él. Desde el primer momento me dijo que podía contar con su apoyo y así ha sido. Sin duda sin tí no habría llegado.

Y claro no puedo dejar de agradecer a todos mis compañeros Académicos de la Facultad de Farmacia, sus buenos deseos, sus momentos perdidos dándome ánimos y diciéndome que ya era mi momento. Y como a ellos a los demás miembros de esta institución que han confiado en mí y a los que no me gustaría defraudar.

Sí señores y señoras, hoy y siempre me he sentido un privilegiado de poder estudiar, investigar, transmitir un poco de mis cortos conocimientos y limitaciones. Orgulloso de mis maestros como los Ilmos. Académicos Dña. Emilia Muñoz Martínez o D. José María Ordovás. Quiero dar las gracias a mis compañeros de Departamento. También a mi familia que me ayudó en este ya largo deambular de 40 años como profesor de la Universidad Complutense. Gracias a los que confiaron en mí cuando estudiaban, investigaban, ejercían como profesionales. Gracias a todos por haberme ayudado a llegar hasta donde he llegado.

Estas Navidades mi mujer, la Dra. Sara Bastida, a la que agradezco su amor y ayuda durante tantos años, me regaló un libro de divulgación sobre la felicidad. Con anterioridad había ojeado otros, y recordaba insistentemente aquello que el profesor Varela siempre decía: “No sólo comemos para cubrir nuestras necesidades, sino también por placer”. Se inició en mí el deseo de enfocar mi tema de ingreso a esta Academia en el tema “Nutrición y Felicidad”. La tarea se presentaba ardua, ya que aunque empíricamente todos entendemos lo que puede ser la felicidad, definirla de forma científica no es en absoluto fácil.

La felicidad es una condición imaginaria que antiguamente los seres vivos atribuían a los muertos, y ahora los adultos atribuyen a los niños y los niños a los adultos

Thomas Szasz.

LA FELICIDAD, EL BIENESTAR, EL PLACER

La felicidad es definida como una condición interna de satisfacción y alegría. Se entiende en este contexto como un estado de ánimo positivo, la capacidad de abordar una tarea llevándola al término propuesto. El resultado final complace a la persona que acomete dicha tarea.

Contemporáneamente Ortega ha puesto de manifiesto que la felicidad se produce cuando coinciden lo que él llama nuestra vida proyectada o lo que queremos ser, y nuestra vida efectiva o lo que somos en realidad.

De Cynthia Grinfeld recogí estas palabras: “Somos un universo integrado por cuerpo y mente cuya función primordial es la de procurarnos la supervivencia. Es decir poder existir para experimentar sobre lo que ocurre en nuestro alrededor y al mismo tiempo ir creando nuestro propio mundo donde se gesten ideas, creencias, valores, formas de ver y de elegir lo que hacer”.

Nuestra felicidad depende de la interacción de las directrices programadas en nuestros genes con otros factores externos que recibimos del entorno familiar, social y cultural en que crecemos.

No lejos de estos conceptos se encuentran el buen humor, el bienestar, el placer. El placer supone “Estado transitorio de satisfacción que resulta de ciertas vivencias y que didácticamente supone la ausencia de dolor, la falta de miedo y la ausencia de enfermedad”.

Felicitas era una divinidad alegórica romana cuya figuración es una matrona que lleva un caduceo (símbolo de la salud) y un cuerno de la abundancia (símbolo de la prosperidad), factores indispensables de la salud. El cuerno de la abundancia, era uno de los cuernos de la cabra Amaltea, regalado por Zeus a las hijas de Meliso prometiéndoles que se llenaría siempre con cualquier cosa que se les antojase.

En el primer estudio científico de felicidad en los españoles aparece la triada mágica salud, dinero y amor como resumen de una vida buena. Posteriormente en el informe del Estudio de la Felicidad de 2011 en España, una gran mayoría de los encuestados pensaba que las prioridades eran: trabajo, salud y familia.

La salud está ampliamente relacionada con el estilo de vida: sosegada, activa, donde la dieta debe contener todos los componentes capaces de cubrir las necesidades de energía y nutrientes de cada individuo y en cada situación fisio-socio-temporal, para evitar déficit nutricionales y reducir el riesgo de patologías carenciales y degenerativas. Es más, la dieta debe contribuir al bienestar mental y social aportando hedonismo, aportando felicidad individual y social.

Cortes en 2006 en el semanario *Época*, publicaba un resumen de los datos obtenidos en 25000 centenarios de Brasil. La autora preguntaba a los entrevistados la razón de su longevidad. Ellos lo centraron en 4 puntos:

- Continuar trabajando y sentirme útil
- Mantener una vida social activa
- Hacer ejercicio
- Adoptar una dieta sana

Para muchos el secreto de la longevidad está en la alegría. Pero las personas más felices no necesariamente tiene lo mejor de cada cosa, sencillamente, hacen

que todo lo que tienen sea lo mejor. Es la integración de lo que se quiere con lo que se tiene.

Aunque sea un caso aislado, mi padre murió a los 95 años. Durante más de 94 tuvo una salud mental y física envidiables. Fue un gran sembrador de valores. Su espíritu siempre era positivo, agradecido, optimista; amaba la vida y te hacía amarla. Disfrutaba con la comida y te hacía disfrutarla.

CEREBRO Y FELICIDAD. EL COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO

El Sistema Nervioso es responsable de conectar nuestro yo con nuestro ecosistema a través de percepciones que le llegan desde los sentidos, desde los receptores. Podemos de una forma sencilla hablar de tres cerebros, el cerebro reptiliano, profundamente instintivo; el arcicerebro o cerebro de mamífero, donde se elaboran las emociones y se crean las bases del aprendizaje y de la memoria; y el neocortex, o cerebro más evolucionado propio de los mamíferos superiores.

Los mecanismos de control en los cerebros instintivo y emocional van dirigidos a luchar por la supervivencia, a evitar aquello que sea nocivo o peligroso. En ambos casos a la experiencia genética expresada en el cerebro reptiliano se une la experiencia aprendida basada en premios o castigos. Cuanto mayor sea la emoción (dolor o placer) mayor será el grado de acercamiento o alejamiento y en muchos casos bastará una experiencia para marcar muy estrechamente nuestro comportamiento.

Nada más nacer, el primer acto del niño como ser independiente es intentar respirar. Posteriormente el acto más importante que asegurará la supervivencia es la búsqueda de alimento, la nutrición, hecho que se consigue mediante la creación de vínculos, de simbolismos, de relaciones emocionales que hacen gratificante y necesario el hecho de comer.

La lactancia, induce interacciones necesarias entre madre y neonato. El pezón es localizado por su aspecto y olor. Al succionarlo se promueven mecanismos que inducen inhibición de la hormona inhibidora de la prolactina, y se desencadena la producción de leche, pero también de oxitocina que induce la eyección láctea a través de los conductos galactóforos. Dado que la oxitocina se considera una de las hormonas del placer, el mantenimiento de la conducta de lactancia presentando el pecho al niño, establece un vínculo “emocional”.

La primera vinculación como individuo independiente con el alimento genera relaciones emocionales; para la madre garantizar la vida del niño obteniendo por tanto felicidad, para el niño conseguir seguridad, gratificarse comiendo. Este comportamiento se fortalece mediante actos de cariño que unen las emociones al hecho alimentario.

En mi primer encuentro científico con la nutrición, realicé un estudio en truchas, en la facultad de Veterinaria. Siempre recordaré a una trucha que “sabía” que yo le daría de comer, que yo la alimentaría. Se creó todo un rito entre la trucha y yo; me recordaba a las páginas del Principito, el zorro, la domesticación, el rito a la misma hora y del mismo hecho.

Tremendamente condicionantes en el comportamiento alimentario son las señales que parten de nuestros sentidos. Disponemos de multitud de receptores que desgranar la información sensorial relacionada con el alimento y con el acto de comer, con la interacción de la comida con nosotros. Receptores gustativos localizados estratégicamente en lengua, paladar, nasofaringe. Receptores de temperatura, volumen, osmóticos colocados en nuestro digestivo. Receptores olfativos que discriminan olores y contribuyen a informar del “flavor”. Conos y bastones engarzados con células bipolares y horizontales en nuestra retina para detectar movimiento, tamaño, formas, colores. Receptores auditivos que informan del sonido, que hacen que el alimento se convierta en agradable por ser crujiente y sonar en nuestras fauces.

La información dividida en sus componentes más básicos se dirige a áreas primitivas del cerebro, el rinencéfalo/sistema límbico, al hipotálamo, a áreas de nuestro cerebro relacionadas con el premio y castigo, con el placer y el displacer, en suma con la felicidad.

En los niños recién nacidos, nos dice Costell, existe una reacción claramente positiva de acercamiento a los estímulos dulces y de rechazo a los ácidos. Esto hace, afortunadamente, más larga la lactancia y tan difícil la incorporación de nuevos alimentos durante la primera infancia.

Posteriormente el niño aprende en poco tiempo a relacionar “seguridad de subsistencia” con “olores”, “sabores”, “sonidos” y “gustos” del alimento que se consume y que aportan matices emocionales, de placer y de felicidad.

Los cambios de sensibilidad “fisiológica” y “aprendida” explican que el rechazo al amargo después de repeticiones se convierta en agradable o deseable como ocurre con el café, las bebidas tónicas, la cerveza, el aceite de oliva, o las especias, sobre todo cuando el aprendizaje se realiza con experiencias paulatinas y no negativas. La aceptación del sabor amargo del aceite de oliva parece incrementarse si durante la lactancia, la futura madre accede de forma repetida al consumo de aceites de oliva con cierto grado de amargor y picante.

*Un plato de habas con chocos,
Gurumelos un montón,
Chorizo, lomo, morcón
Y si te saben a poco
Toma de postre jamón*

ALIMENTOS QUE DAN PLACER. SITUACIONES QUE PREDISPONEN A COMER

Todos los alimentos originan sensación placentera cuando son observados y comidos en su momento preciso. El alimento cuando es analizado por su efecto en la salud, bajo el punto de vista de la experiencia pasada propia o del grupo, adquiere un simbolismo, una jerarquía hedónica. Así, la sensación placentera de beber agua en verano o una bebida fría cuando estamos sedientos es inigualable; de hecho la sed despierta una necesidad imperiosa de búsqueda de agua a través de mecanismos complejos que forman parte del comportamiento dípico. Recordemos que sin agua nuestra supervivencia no puede garantizarse más allá de 4 o 5 días.

Mercé Vidal en el I Foro internacional de investigación en cocina y nutrición en el Mediterráneo señalaba que el pan, vino y aceite configuran la identidad de los pueblos del mediterráneo como símbolos de civilización, prosperidad y culto a la fertilidad.

El aceite es uno de los componentes dietéticos más relevantes. Una dieta sin grasa es una dieta impalatable que dista mucho de aportar los atributos necesarios para dar placer, para que sea recordada por su agradabilidad. Todos sabemos de los beneficios del consumo de aceite de oliva virgen o extra virgen por su perfil de ácidos grasos y contenido en componentes minoritarios. Pero uno de los aspectos indudables es la palatabilidad que aporta a los alimentos tanto en crudo como cuando se utiliza en sofritos, o fritura profunda. En crudo, aceites delicados, suaves, un poco amargos y no picantes son una buena elección para aderezar ensaladas, vegetales, pescados blancos o preparar mayonesas, sopas con huevo o cremas de verduras. Los aceites frutados con algo de amargo fortalecen el sabor de los fritos, principalmente en el caso de las patatas y huevos. Estos aceites mejoran casi todos los sofritos y la base de los estofados y asados.

El Segundo componente central de la dieta Mediterránea, el trigo, dio lugar a un alimento sagrado que trajeron los romanos, el pan. Cuando estuve en Estados Unidos con mi familia hace ya doce años, disfrutando de mi año sabático, eché de menos muchas cosas de España, pero en particular el pan fresco, el pan tradicional, el alimento que hace que el aire huelga a pan nuevo, que cruje en la boca y hace

irrepetibles los bocadillos. Sin pan no hay buena salsa ni buena comida, los huevos fritos no saben igual.

El pan es una buena fuente de hidratos de carbono, y como tal de glucosa, la molécula metabólica más importante de nuestro cuerpo. Esto eleva al pan a alimento seguro e indispensable, creando un símbolo emocional, a través de la gratificación que une seguridad con salud, y salud con felicidad; felicidad de poder comer y compartir. Los hidratos de carbono, a través de modificar los niveles de insulina incrementan la disponibilidad de triptófano por el cerebro.

En el horneado se forman compuestos de Maillard. Estos compuestos en cantidades pequeñas hacen agradable al pan. A parte del sabor, el olor, su textura crujiente, el sonido al masticarlo, la untuosidad y en cierto modo la dificultad de tragarlo sin masticar, elevan al máximo el placer de consumir pan. Es más, el ayuno clásico permitía pan y agua, es decir, estos dos alimentos se respetaban por ser estrictamente fundamentales y necesarios. La capacidad de compartir este alimento seguro y necesario para la vida, ha elevado la emotividad hacia él a cotas importantísimas. Baste mirar que el pan ha sido y sigue siendo un alimento sagrado, un alimento donde Dios se encarna y lo convierte en divino, y necesario para la vida eterna.

Los romanos integraron a las uvas en la cultura mediterránea y es el vino junto al pan y al aceite el tercer componente sagrado de nuestra gastronomía. El vino y otras bebidas alcohólicas han contribuido a la felicidad del ser humano más que cualquier otro alimento. En cualquier parte del mundo desde que el hombre es hombre, o al menos desde Noé, el hombre ha buscado producir y consumir tales alimentos. El agua, salvo la recogida de manantial en la cabecera de las montañas, o de ciertos pozos, no era segura. “El agua para las ranas” se decía. Hoy por hoy, a pesar de los grandes progresos realizados, sigue siendo una asignatura pendiente tener agua higienizada, agua potable para todos.

Sabemos hoy que el vino es un buen ansiolítico cuando se consume en cantidades moderadas. Es por otro lado aperitivo, abridor e iniciador de los primeros encuentros, rompedor del hielo en las reuniones sociales, mejor complemento de buenos platos y buenos postres, pero por otra parte responsable del gran castigo que supone hoy el botellón y el consumo no responsable de bebidas alcohólicas.

Hace unos meses leía en un bar de Navacerrada:

Beber es todo medida,

Es darle alegría al corazón

Y sin perder la razón

Darle razón a la vida

Al igual que el pan, el vino adquiere un enorme simbolismo, y lo convierte en alimento sagrado, alimento que nos conduce a la felicidad a través del simbolismo generado en la seguridad y bienestar.

Omar Khayyam era un astrónomo persa que vivió en el siglo XI, y al que se atribuyen descubrimientos algebraicos y matemáticos y un nuevo calendario. Omar en su obra Rubaiyat increpa:

“Puesto que ignoras lo que te reserva el mañana, esfuérate por ser feliz hoy. Coge un cántaro de vino, siéntate a la luz de la luna y bebe pensando en que mañana quizás la luna te busque en vano”.

Otro de los alimentos más imprescindibles es la sal. Palabras y expresiones como salario, soso, la sal de la vida, ¡Qué salado/a es! señalan la importancia de la sal en nuestra dieta, en nuestras vidas y en nuestra felicidad. Existen potentísimos mecanismos homeostáticos para regular la concentración de sodio extracelular que señalan la esencialidad de este mineral y explican el valor de este “alimento”. No es de extrañar que desde la tierna infancia los niños adquieran importante reconocimiento y atracción hacia lo salado. Sin sal las posibilidades de supervivencia son muy bajas ya que nos deshidratamos. Tenemos potentísimos mecanismos que se conocen como hambre específica de sal o más específicamente de sodio, que hace que consumamos este alimento, para garantizar la seguridad y la felicidad.

La sal adquiere a su vez un enorme valor alargando la vida útil de productos perecederos. Además, algunos alimentos muy apreciados como el jamón o el marisco, se preparan con sal. En el marisco el simbolismo se eleva al estar encerrado en un exoesqueleto, aspecto que demanda esfuerzo, capacidad, adiestramiento para llegar a él y consumirlo. Sus componentes por un lado aseguran la vida, y por otro recuerdan al mar primigenio del que procedemos. Cocerlos en agua con sal, aumenta aún más sus propiedades organolépticas, contribuyendo al placer y felicidad del que los consume.

Pero sin duda uno de los alimentos estrella de nuestra gastronomía, es el jamón ibérico de bellota. En él se encierran multitud de propiedades: proteína cárnica de calidad, buena palatabilidad, sabor, olor, textura para muchos inigualables. Hay un dicho que se atribuye a Camarón de la Isla: *“Del cerdo me gustan hasta los andares”*, pero que con seguridad es más antiguo, pues ya dice un refrán castellano que *“Más conversos hizo el jamón que la Santa Inquisición”*.

Tengo el honor de pertenecer a una peña gastronómica en la Facultad de Farmacia junto a algunos de los Excmos. Sres. Académicos que se encuentran en este Foro. Una peña, que sin jamón no tendría ni nombre. Nos reunimos de vez en cuando para comerlo regado con buenos vinos, en buena compañía, con la finalidad de reírnos y contar chistes durante dos o tres horas.

Los alimentos, las bebidas dulces constituyen un grupo amplio que contribuye a la felicidad del que las consume. Una de las razones clave es que aportan directa o indirectamente glucosa. De nuevo la seguridad de la existencia, de la salud, induce la búsqueda, eleva el simbolismo y conduce a la felicidad. Uno de los aspectos claves es el hambre específica por glucosa, no es de extrañar que después de una comida “saludable” no siempre gratificante, nos decidamos por un broche final dulce, quizás no tan saludable pero mucho más gratificante.

Ya nos decía Carlos Cano:

*Alacena de las monjas
Que nos da Gloria bendita
Pastelillos de toronjas
Y dulces de leche frita*

Uno de los aspectos que más condicionan nuestro aprendizaje es el momento final de la experiencia. También la intensidad del momento tiene una influencia enorme en la memoria hedónica. Esto explica que una buena compañía, un buen vino, una agradable presentación o guarnición o postre perfecto sean atesorados en nuestra memoria y ayuden a la elección de las comidas posteriores.

Robinson y colaboradores en 2011 señalaban que incluir en el fondo de un yogurt mermelada, hacía más gratificante el final de la ingesta del yogur que la viceversa, lo que implicaba que aquel yogur fuera más recordado y a la larga consumido.

En otra curiosa publicación, Polivy y colaboradores en 2010, demostraron la subjetividad del hecho alimentario. Así, se repartían trozos iguales de pizzas vegetales entre mujeres que se contenían frente a comida o que no lo hacían. Posteriormente a estas mujeres se les mostraban trozos de pizzas que eran un tercio mayor o menor que el suyo, diciéndoles que eran los que habían comido sus compañeras de estudio. En unos minutos se les dejaba comer y posteriormente se les permitía acceder a consumir galletas de tres platos, las primeras ricas en pasas, las segundas con una cubierta de chocolate y las terceras con doble capa de chocolate. Las mujeres que normalmente limitaban su ingesta, convencidas que su trozo de pizza era menor que el teórico de su vecina, comían un 33% más de galletas y se sentían más infelices que las que no asumían diferencias o veían su trozo mayor.

The Chocolate Happiness Undergoing more Pleasantness study fue diseñado para comparar los efectos del chocolate negro o con leche frente a no suplemento de chocolate en 108 mujeres y 72 hombres. En principio se observó que en una

escala de 0=infeliz a 10=feliz, los consumidores de chocolate negro incrementaban su felicidad en 0,63 unidades y los de chocolate con leche en 0,68. Los que no recibieron chocolate presentaron una disminución de 0,37 unidades, pues se consideraron castigados. Aún más, al final de estudio se observaron trasgresiones, de tal forma que algunos del grupo sin chocolate habían consumido clandestinamente tal alimento.

Entre los componentes que requieren especial atención son las especias y algunos ingredientes que incrementan el punto picante de los alimentos y los hacen más apreciados. Nilius y Appendino en 2011 revisaron aquellas sensaciones que se perciben como una irritación semejante a una quemadura en la lengua, en el paladar, en la boca. Una sensación mezcla de agradable/desagradable, que una vez reconocida, memorizada y aprendida se hace agradable y buscada.

Las fibras del trigémino reciben información sensorial de las papilas gustativas que expresan proteínas canales que producen cambios transitorios de potencial de receptor (*transient receptor potencial*, TRP). Muchos componentes de los alimentos interactúan con estos canales y proveen información quimiostática, y su aroma y usos fueron conocidas por nuestro ancestros.

Muchas especias, la pimienta, el ajo, la cebolla, la cúrcuma, la guindilla son picantes y tienen efectos positivos para la salud. Aceptar o rechazar un alimento depende también del recuerdo de acciones previas similares y de la información cultural y social. También, el conocer de una forma empírica que tal alimento cocinado, mantenido con tal especia era más seguro y sabía mejor. Como resultado los humanos ancestrales gustaban de las especias, y sus genes fueron condicionados por ellas, generando nutrigenómica. Aquellos consiguieron descendientes mejores y con mayor expectativa de vida. A su vez sus hijos, llegaron a ser tolerantes con el uso de ciertas especias.

Como consecuencia específica de la activación de canales sensoriales TRPA1 por el oleocantal, la sustancia fenólica anti-inflamatoria más abundante del aceite de oliva, los mediterráneos, que han desarrollado capacidad de aceptación por el sabor picante del aceite de oliva, se benefician de los aspectos saludables de dicho aceite.

El sistema nervioso es una de las partes de la economía más sensibles a la falta de nutrientes. La falta de ellos puede producir alteraciones en la cantidad y calidad de los neurotransmisores y de receptores, induciendo apoptosis, pérdida de circuitos, de memoria, de consolidación de la misma, alteraciones neurológicas que aceleran el envejecimiento o conducen a la depresión o al Alzheimer.

Otro alimento estrella de nuestra gastronomía es el pescado. A parte de su proteína, aporta vitaminas, minerales y ácidos grasos poliinsaturados omega-3 que contribuyen al equilibrio emocional y mental. Así, suplementos de ácidos omega-3,

reducen en animales de experimentación el estrés, y modifican la relación de dopamina, serotonina y noradrenalina. Los animales de experimentación que reciben en sus dietas aceites con un perfil más equilibrado omega-6/omega-3, aprenden a evadir estímulos nociceptivos más rápidamente que aquellos con consumo preferente de ácidos grasos omega-6. Indiscutiblemente esto contribuye a la felicidad y al bienestar.

Pascoe y col en 2011 revisaron 272 trabajos en los que se relacionaban los ácidos grasos poliinsaturados con la depresión y 686 que asociaban inflamación a nivel cerebral con ácidos grasos poliinsaturados. Entre las conclusiones más relevantes se encuentran que los ácidos grasos poliinsaturados influyen tanto los desórdenes inflamatorios como depresivos a través de las prostaglandinas y citoquinas que se producen en el metabolismo de tales ácidos grasos. En términos metabólicos los prostanoídes que se originan en el cerebro a partir de los ácidos grasos omega-3 son mucho menos inflamatorios y agresivos que los que se originan a partir del ácido araquidónico.

Muy en relación con la Dieta Mediterránea, Gu y col (2010) en un estudio realizado en 2.148 personas de más de 65 años testaron cada año y medio la aparición de nuevos casos de Alzheimer. Se eligió un perfil basado en el alto consumo de ensaladas aliñadas, frutos secos, pescados, tomate, aves, crucíferas, frutas y vegetales verde oscuros y bajo en lácteos grasos, carne roja y mantequilla. Los individuos con mayor adherencia a este perfil dietético tenían 38% menos riesgo de Alzheimer que aquellos con la menor adherencia.

ALIMENTOS FUNCIONALES

En la actualidad se buscan alimentos y bebidas que contengan ingredientes o en los que se haya modificado su composición que sirvan para mejorar “el humor o el estado de ánimo” o en definitiva para aportar placer y felicidad. Así, el aporte de glucosa a través de un alimento o la presencia en él de un estimulante con una vida media corta generará respuestas cada vez que se consuma dicho alimento o bebida. Alternativamente, el efecto puede ser inducido de forma más gradual y depender de crear mediadores en el cuerpo como consecuencia de una ingesta continuada, por ejemplo de vitaminas, minerales, ácidos grasos esenciales. Tales nutrientes pueden ayudar a mantener una funcionalidad óptima o reducir factores que induzcan la pérdida de función.

Algunos hidratos de carbono, como la sacarosa, producen una marcada sensación de gratificación cerebral ya que inducen vertimiento incrementado de opiáceos endógenos. No es de extrañar que en el Siglo XX se incrementara en el mundo 90 veces el consumo de sacarosa. A través del mecanismo de liberación de

opiáceos endógenos, un alimento conteniendo sacarosa puede convertirse en funcional, ya que ayudaría a calmar el dolor en los niños.

La cafeína actúa como un antagonista de los receptores de adenosina, causando vasodilatación, vertimiento de renina y catecolamina, y actividad del sistema nervioso central. A través de este sistema de activación de receptores de adenosina, la cafeína afecta a variedad de neurotransmisores como dopamina, serotonina, noradrenalina. Se han definido efectos subjetivos de bienestar, energía, motivación, autoconfianza promovidos por el consumo de cafeína a través del café o de bebidas de cola. Si la *Felicidad* es la pérdida de miedo, la autoconfianza alcanzada con la dieta, claramente sería un buen marcador de felicidad.

La felicidad un estado de ánimo altamente dependiente de la actividad de áreas de recompensa cerebral. Nuestro comportamiento y nuestra existencia se basan en procesos de acercamiento o distanciamiento de aquello que pueda ocasionar modificaciones importantes o seguras para nuestra supervivencia. Los mecanismos disparadores son muy complejos, pero se basan en sustancias o neurotransmisores de recompensa o gratificación entre los que destacan la Dopamina, los opiáceos internos y los endocannabinoides. Dichas moléculas son producidas por conjuntos de neuronas que se localizan en áreas de recompensa cerebral.

La Dopamina cuando se libera y actúa ocasiona una sensación de recompensa. Previamente, ha sido necesario liberar noradrenalina para llevar a cabo una acción que permita alcanzar el objetivo. Una vez completada la acción y conseguida la recompensa se cierra el circuito mediante la aparición de serotonina. A su vez se activan otros circuitos que conducen a la sensación de premio y que dependen de los opiáceos internos y de los endocannabinoides que ligan la nutrición con el placer y la felicidad.

Circuitos dopaminérgicos

Existen innumerables proyecciones de fibras que emplean dopamina como neurotransmisor sináptico en el Sistema Nervioso Central, destacando desde la perspectiva nerviosa alimentaria, el sistema mesolímbico que arranca desde el área tegmental ventral del mesencéfalo y proyecta sus fibras al prosencéfalo. Este sistema es especialmente importante a nivel del núcleo estriado ventral (núcleo accumbens) y regula la motivación, es decir el paso de la impulsividad instintiva a la aplicación de patrones psicomotrices estereotipados teniendo una enorme transcendencia en el control de la ingesta. Las lesiones de las vías dopaminérgicas en animales, la existencia de polimorfismos de genes que codifican su producción, secreción, recaptación y eliminación, o su modificación por psicofármacos originan alteraciones del comportamiento alimentario.

Opioides

Los opioides endógenos son familias de neuropéptidos implicados en multitud de funciones del sistema nervioso entre las que se incluye el control del hambre y del apetito. Son responsables de nuestras preferencias alimentarias y del mantenimiento de la ingesta en función de la sensación de recompensa derivada de su palatabilidad, que suele denominarse recompensa orosensorial.

Cuando se tiene hambre, se asocia el alimento con alguna emoción agradable, o sencillamente se experimenta felicidad, por lo que la ingesta será más placentera, más duradera y mayor. Cuando a la mesa alguien comenta sobre un alimento lo bueno que está, por sintonía termina pareciendo agradable, ayuda a crear un ambiente positivo y es compartido, contribuyendo claramente a bienestar y felicidad de todos y en particular del que lo compró o cocinó.

Nuestro equipo viene trabajando desde hace tiempo en frituras de alimentos y hemos contribuido a un capítulo de un libro editado por Elsevier sobre dieta Mediterránea. En él señalamos los beneficios y los inconvenientes de la fritura, y recalamos el incremento de la palatabilidad que acontece en los alimentos al freírlos, y que en muchos hogares españoles esta técnica culinaria tiene una importancia nutricional indudable, ya que aproximadamente el 30% de las recetas se realizan mediante sofrito, o fritura de alimentos enharinados o rebozados. Para muchos españoles y mediterráneos, eliminar de su dieta los alimentos fritos, es uno de los “castigos” más terribles, y es causa a veces de desarreglos nutricionales y emocionales, ya que el individuo no sabe que comer, por no apetecerle los alimentos cocinados de otra forma.

Cannabinoides

Nuestro cerebro sintetiza endocannabinoides que ejercen efectos reguladores de la ingesta. Son derivados de ácidos grasos insaturados como el araquidónico y se unen a receptores CB1 y CB2.

Particularmente tienen relación con el consumo de *snacks* y la pica entre horas, son responsables del salto cuantitativo entre las ganas de comer y el hecho de introducirlo en la cavidad oral, masticarlo y deglutirlo. Así, la actividad cannabinoide cerebral aumenta progresivamente en los intervalos entre comidas, hasta alcanzar un límite en el que dispara la motivación para comenzar de nuevo la ingesta. Estos sistemas también intervienen en la percepción cerebral de los efectos gratificantes de los alimentos y por tanto en los fenómenos hedonísticos de recompensa que acompañan a la ingesta.

Puede decirse que al potenciar la satisfacción obtenida con los alimentos son capaces de promover y mantener la ingesta, fundamentalmente frente a sabores nuevos, presentaciones que llamen la atención o que gusten especialmente.

PAPEL DE LOS GENES EN LA FELICIDAD Y EN EL PLACER DE COMER

Es interesante comentar que cuando se incluye en la base PubMed el trio de palabras clave “happiness”, “diet” y “gene”, instantáneamente aparece una plétora de estudios que se refieren a enfermedades como la obesidad o el Alzheimer, pero que realmente no hablan o relacionan claramente el tema dieta y felicidad o genes y felicidad. Este aspecto hizo que durante unos meses pensara abandonar el tema que les estoy presentando ahora para mi ingreso en esta Real Academia.

Lykken y Tellegen mostraron que la base de la felicidad tiene un componente genético indudable. Caspi y colaboradores en 2003 han descubierto que el gen de la serotonina (5-HTT) está implicado en la distribución de dicho neurotransmisor en el cerebro y por tanto regula nuestro estado de ánimo.

De Neve y col en 2012 en su revisión *Genes, economics, and happiness* estudiaron la influencia de la genética sobre el bienestar en gemelos, y estiman que las variaciones genéticas explican alrededor del 33% de la varianza individual de la felicidad. Estos autores estudiaron en 2574 jóvenes del estudio Add Health la relación entre los alelos del gen de la serotonina (5-HTT) con ciertos marcadores de felicidad o infelicidad. En el 33% de individuos que portaban el alelo menos eficiente (el corto) se diagnosticó depresión respecto a únicamente el 17% en el caso de los portadores del alelo largo.

Las influencias genéticas derivadas del cromosoma X o Y influyen de forma evidente. Así, se ha detectado un incremento de la sensibilidad al salado y el dulce en las mujeres y al ácido en los hombres. El Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad aquí lo tiene difícil.

La sensibilidad al amargo y al dulce se ha relacionado con el consumo de alimento y control del peso corporal. Así, los hiperrespondedores al dulce consumen alimentos dulces en mayor cuantía, mientras que los hiporrespondedores al amargo comen más verduras. También el rechazo o atracción a ciertos alimentos con olores fuertes (pescados, quesos, especias) viene dado por la sensibilidad a ciertos olores y ésta por la existencia de polimorfismos genéticos.

Nuestro grupo ha presentado recientemente candidatura a un proyecto europeo donde se pretende explicar las respuestas cerebrales que se producen ante la visión virtual o real de un alimento y de sus atributos y los mecanismos que conducen a su elección y consumo. Entre los marcadores que se pretenden estudiar se encuentran polimorfismos genéticos que explican la hiper- o hiporrespuesta o sensibilidad a los diferentes sabores ácido, salado, amargo, dulce, umami (y posiblemente frito) y a múltiples olores y que por tanto condicionan en gran medida nuestros gustos alimentarios.

Pero la situación va más allá, polimorfismos de genes que permiten la mayor o menor producción de sustancias orexígenas o antiorexígenas, genes que interaccionan con nuestros opiáceos endógenos y condicionan nuestro comportamiento alimentario. Pero no sólo genes, sino también influencias epigenéticas que modifican la expresión génica a través de cambios pequeños en sus moléculas controladoras o en sus ácidos nucleicos constituyentes.

Ishiguro y colaboradores en 2011 encontraron que el alelo Val195 del gen de la proteína G acoplada al receptor 55 (GPR5) que tiene baja afinidad por los endocannabinoides era más abundante en el grupo de anoréxicas. Martykanova en 2010 señalaba que polimorfismos en el gen que codifica los receptores CB1 para endocannabinoides son parcialmente responsables del comportamiento adictivo, la depresión y la forma patológica de comer. Según Haghghi y col la ingesta de grasa en adolescentes es modulada por variantes de gen mu1 del receptor de opioides.

Leturque y colaboradores señalan que la ingesta de azúcar es regulada por polimorfismos y que ciertos polimorfismos del receptor de la dopamina-D2 amplían la señal de gratificación debida a hidratos de carbono.

En 2008, Blum y colaboradores ensayaron durante 80 días de tratamiento un nutracéutico el LG839 en 1058 sujetos que participaban en el Overall D.I.E.T study. Estos autores observaron una reducción del peso, del ansia por el consumo de azúcar, del consumo de *snacks*, supresión del apetito, mejoría de la calidad del sueño, de la felicidad y de la energía y encontraron asociación de los datos con el polimorfismo del receptor D2 de la dopamina.

En noviembre de 2010, Vicki Brower en la revista News señalaba un comunicado de la FDA sobre el riesgo elevado que implicaba el hecho que los consumidores tuvieran acceso directo a los test genéticos. Insistía en la importancia de que no fuera un arma utilizada para incrementar el mercado de un producto o la potenciación de patentes y que sólo estuvieran en manos de personal sanitario. A nuestro entender el hecho de que un individuo conozca que posee un determinado polimorfismo que le predispone o le protege frente a una enfermedad, haría que en muchos casos el individuo se convirtiera en ortoréxico consumiendo sólo unos cuantos alimentos, en teoría “perfectos” o bien se abandonara a dietas totalmente insanas alejándose del paradigma dietético que señalaba el profesor Grande Covián, comer de todo un poco y mucho de nada.

*Sé feliz como un chiquillo,
Comparte con ilusión,
Come gambas al ajillo,
Atún, Corvina, Dentón,
Y de postre un fandanguillo*

COMER, UN ACTO SOCIAL QUE PRODUCE FELICIDAD

Si algo nos distingue de los animales es el hecho social de comer y compartir comida. Una de las características más determinantes de las sociedades primigenias es la actitud social ante la comida, se aprecian ritos, orden en los platos, situación y jerarquización a la hora de comer o de una posición en la mesa. No hay nada más triste que tener que comer sólo, de pie, con prisa. Llegar a un acuerdo sobre un negocio, la conquista amorosa, son aspectos que se consiguen más fácilmente en el marco de una comida buena y agradable. Para un anciano no hay cosa más apreciada que comer con los suyos, que recordar la comida que su madre con todo el amor del mundo preparaba.

No es de extrañar que aquel alimento con una forma, tamaño, color, apariencia, sabor familiar pueda afectar el humor y la felicidad en virtud de las preferencias o aversiones. El consumo de una larga comida lleva a felicidad o bienestar, incluyendo relax, contento y sueño. La siesta tan mediterránea, tan española, estimula la producción de melatonina y ayuda a un buen equilibrio de neurotransmisores que se relacionan con la felicidad. Respetar la siesta implica distanciar la comida de la cena y hacer factible el periodo de saciedad y recompensa de los alimentos a través de la regulación de opiáceos endógenos y endocannabinoides.

Cada individuo, cada sociedad tiene un tipo alimentario diferente, existiendo una relación dinámica entre lo que se desea ser y lo que sus alimentos les permiten ser. No somos lo que comemos, comemos lo que somos, buscamos en todo momento lo que nuestra memoria, nuestra cultura, nos inculcó.

A través de la comida y lo que se relaciona con ella, a través de memorizar y recordar, se contribuye claramente a gratificar, a buscar repetidamente aquello que pertenece a nuestro acervo familiar, social, cultural. Ciertos alimentos se implican en una de las funciones más importantes de nuestro cerebro, la capacidad cognitiva. Mediante ella se desencadenan procesos de selección y memorización, con los que se integran en Áreas cerebrales asociativas no sólo las características de los alimentos y de la acción de comer, sino de la atención dirigida, la capacidad de abstracción, de verbalizar procesos, de realizar planes a partir de experiencias y producir nuevas relaciones.

El hipocampo, una de las áreas de memoria más importantes, es responsable en gran medida de los mecanismos cerebrales que unen nutrición con felicidad, felicidad con nutrición. Es algo más que placer, es emoción, algo que hace que busquemos en el pasado, en la experiencia. Una reducción del volumen del hipocampo y de áreas relacionadas, como la corteza anterior del cíngulo y los núcleos amigdalinos, conlleva alteraciones del número de circuitos y del equilibrio de neurotransmisores y, por tanto, de la capacidad de llegar a la felicidad a través de la comida.

En palabras de Cruz Cruz, "el comer en compañía es el fenómeno por el que el hombre trasciende de hecho su animalidad". No sólo eso, muchos regímenes terapéuticos, como la dietoterapia antiobesidad, fracasan cuando se realizan sin complicidad. La práctica del autoservicio, de los *brunchs*, *buffets* son nada recomendables, cada individuo selecciona lo que consume, sin conexión con los que le rodean, sin compartir.

La dieta mediterránea supone compartir, disfrutar aunque sea de una comida modesta. Aparecen lazos intangibles de amor por aquel que ha preparado y reparte la comida, del que quiere lo mejor para todos los que se sientan a su mesa. Nuestro grupo ha realizado estudios en colectivos que seguían modelos de consumo típicamente mediterráneos, todo compartido, eran profundamente felices y sus marcadores cardiovasculares y hematológicos envidiables. Cuando se incluyó en su dieta un aceite no tradicional, oleína de palma, decían que el diablo se había metido en la cocina.

Por ello, quiero insistir en que sólo aquellos alimentos que durante generaciones han sido seguros, aquellos emocionalmente importantes y consumidos en familia o grupos, de los que se dispone de información social de cómo cocinarlos y consumirlos, de cómo compartirlos, han tenido y tendrán incidencia importante y positiva en la nutrición humana, en la felicidad. Al contrario, aquellos alimentos que no pertenecen a nuestro acervo cultural, que no se comparten con amor y cariño, con tradición, tienen muchas posibilidades de inducir estados no saludables, malnutriciones e infelicidad.

Igualmente importantes para proteger el bienestar, la vida, la felicidad son las normas sociales, las tradiciones. Aprendiendo de mis alumnos escuché un día: "*La educación es una inversión que no se pierde*". La siembra de valores sociales, culturales, familiares entre los que se sitúa la forma de comer, la dieta mediterránea, el enseñar a cocinar a nuestros hijos, fomentan la salud, la motivación y la esperanza de un buen futuro incrementando la probabilidad de alcanzar la felicidad.

No quiero terminar este discurso sin una reflexión. Como farmacéuticos, sanitarios, científicos, personas, tenemos la obligación de ser felices y hacer felices

a los que no rodean, sobre todo a aquellos que pasan hambre. Como seres humanos debemos asegurar la subsistencia, mejorar las condiciones de vida y de nutrición de nuestro prójimo. Es este un foro que permite, mediante reuniones, conferencias, acciones, colaboraciones luchar contra el hambre y hacer felicidad. Valga mi reconocimiento a mis compañeros Académicos que desde años están en ello y mi compromiso desde este momento para poner mi granito de arena en eso que puede hacer que nutrición implique felicidad, que nutrición sea felicidad a través de la educación, información, concienciación social, entrega, colaboración, participación, e investigación.

He dicho



CONTESTACIÓN EN NOMBRE DE LA ACADEMIA POR EL EXCMO. SR. D. BERNABÉ SANZ PÉREZ

Excmo. Sr. Presidente, Excmos. Señoras y Señores Académicos, familiares y amigos del Profesor Sánchez Muniz, Señoras y Señores.



Ante todo permítanme agradecer muy cordialmente a la Real Academia Nacional de Farmacia, mi designación para hacer la *laudatio* del Profesor Sánchez Muniz, exponer su *curriculum vitae* resumido ante este digno auditorio y hacer un pequeño comentario sobre el discurso de ingreso que acabamos de oír.

Conozco al profesor Sánchez Muniz desde mi llegada a Madrid, en el curso 1968-69, primero en la Cátedra de Fisiología Animal y después en el Departamento de Nutrición y Bromatología I de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense; ambos fueron dirigidos, hasta su jubilación, por nuestro buen amigo y académico numerario, el profesor Dr. D. Gregorio Varela Mosquera. La amistad y afecto que me unen al nuevo académico son fruto del mutuo y rápido entendimiento que a pesar de nuestra diferencia de edad, fue creciendo con el transcurso de los años. Soy testigo de su entrega y dedicación a la docencia e investigación y sé que cuantos han sido sus alumnos tanto en la licenciatura de Farmacia, como más tarde en la de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y en la Diplomatura, hoy ya Licenciatura, de Nutrición Humana y Dietética coinciden en que es un gran maestro, excelente pedagogo, brillante en sus explicaciones y por encima de todo abierto siempre a las sugerencias de sus estudiantes y colaboradores. Cuantos lo conocen admiran su capacidad organizativa y su aptitud para las relaciones públicas, puestas de manifiesto en cuantos cargos ha desempeñado.

Permíteme Paco, que destaque públicamente tu gran bonhomía y perdóname si hiero tus sentimientos, pero como dicen en tu Huelva natal eres “muy buena gente”.

Francisco José nació el 19 de marzo de 1950 en el seno de una familia universitaria de clase media. Su padre, don Francisco, era también farmacéutico y hasta su jubilación dirigió una oficina de farmacia y un laboratorio de análisis clínicos. Casado con doña Alejandrina, consuelo y fortaleza de todos hasta su fallecimiento, tuvieron tres hijos, Alejandro, el mayor estudió Arquitectura, Paco - nuestro protagonista - fue el segundo y como su padre estudió Farmacia, mientras

Fernando cursó Medicina. Entre sus familiares más próximos hay otros cinco farmacéuticos, a los que se sumó por matrimonio la Dra. Sara Bastida Codina quién le ha dado dos hijos, Francisco, licenciado en Ciencias de la Educación, y Miguel que cursó la carrera de Bellas Artes. Sara, además de excelente madre y esposa, es una magnífica y fiel colaboradora en la cátedra.

Nuestro académico hizo los estudios primarios y todo el Bachillerato en el Colegio Cristóbal Colón de los Hermanos Maristas de Huelva, mientras el curso preuniversitario lo estudió en Madrid en la Academia Krahe. Su inclinación por las ciencias naturales, donde contó con excelentes profesores en el ámbito familiar, le llevó a matricularse en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. En 1967 inició, lleno de ilusiones, el primer curso de la licenciatura. Dado su espíritu inquieto se entiende que, además de asistir a sus clases teóricas y prácticas, participase en otras actividades más lúdicas organizadas por los alumnos, como la Tuna de la Facultad de Farmacia de la que fue un miembro destacado. En contra de lo que podría pensarse, ello no impidió que terminase la licenciatura en los 5 cursos reglamentados. Esto dice bastante de su capacidad y disciplina intelectual. Su afición por la música sigue tan fresca como en su época de tuno y junto con otros compañeros de la época estudiantil es un miembro destacado de la Agrupación Musical Arcipreste de Hita.

En 1973 defendió su memoria de licenciatura titulada “Alteraciones enzimáticas por estimulación del sistema inmunológico” que fue dirigida por la Dra Muñoz Martínez y obtuvo la calificación de sobresaliente. Nombrado ayudante de clases prácticas adscrito a la cátedra de Fisiología Animal, compagina sus obligaciones en la cátedra con la realización de una serie de cursos de especialización que contribuyeron a mejorar su formación y a mostrarle nuevos horizontes; destacaré entre ellos los de Análisis Clínicos, Óptica Oftálmica, Acústica Audiométrica, y Técnico Bromatólogo.

Al mismo tiempo llevó a cabo su tesis doctoral dirigida también por la Dra. Muñoz Martínez y titulada “Contribución al estudio in vivo de la inmunidad celular”. La defendió en el curso 1975-76 alcanzando la calificación de Sobresaliente cum laude. Durante un curso académico desempeñó interinamente la Adjuntía de Fisiología Animal, siendo nombrado a continuación Profesor Adjunto Contratado de Fisiología, cargo que ocupó durante 5 cursos académicos en los que siguió trabajando en sus líneas de investigación.

En 1983 solicitó pasar del Área de Conocimiento de “Fisiología” a la de “Nutrición y Bromatología”, donde encajaba mejor su actividad docente e investigadora. Así pudo participar y conseguir, por concurso oposición, la plaza de Profesor Titular de Universidad que desempeñó hasta el curso 2003-04 al lograr, también por concurso oposición, la cátedra de Nutrición de la Facultad de

Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, de la que tomó posesión el 11 de agosto de 2004.

Como catedrático de Nutrición ha impartido regularmente su docencia en las licenciaturas de “Farmacia”, “Ciencia y Tecnología de los Alimentos”, Diplomatura y Licenciatura de “Nutrición Humana y Dietética” y en el “Master de Nutrición” titulación propia de la Universidad Complutense de Madrid.

Las principales líneas de investigación seguidas por el profesor Sánchez Muniz son:

La influencia de la proteína dietética en la inducción de hipercolesterolemia en los conejos. Se trata de un trabajo experimental de la Universidad Agrícola de Wageningen (Holanda) diseñado por el profesor Hauvast, en colaboración con los Dres. Hermus y Katan, al que incorporaron a nuestro amigo Paco recién llegado de España. Durante su desarrollo le tocó poner a punto una técnica para la identificación y separación de lipoproteínas por ultracentrifugación en gradientes salinos, que gozó y aún goza de gran reconocimiento.

Nutrición y Enfermedades cardiovasculares. Línea de investigación que ha ocupado a mucho personal de su laboratorio en la que se estudia el papel de diferentes componentes de la dieta en el metabolismo lipoproteico. Analizan los cambios degradativos de aceites y grasas de fritura, tanto a nivel doméstico como industrial, empleando fritura superficial y profunda, con aceites nuevos y reutilizados y sus efectos en los caracteres sensoriales y en la termoestabilidad de los productos terminados. Otro aspecto incluido en esta línea de investigación es la hidrólisis *in vitro* e *in vivo*, por la lipasa pancreática, de los compuestos termooxidados originados en condiciones de fritura diversas.

También tendrían cabida en esta línea de investigación los trabajos sobre la variación de la calidad nutritiva de los huevos de gallinas ponedoras sometidas a raciones alimenticias distintas. Este trabajo mereció el Premio Nacional del Segundo Concurso Científico del Instituto Español de Estudios del Huevo.

Estatus nutricional y determinaciones antropométricas para determinar el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Es un estudio en el que se han implicado bastantes equipos de investigación para establecer el estatus nutritivo de poblaciones en las que se han detectado diferentes grados de afectación cardiaca. Sirvan de ejemplo los trabajos conocidos como “Área de Toledo”, “Fuerzas Armadas”, “Estudio Avena” “Estudio Mérida”, etc. En ellos se relacionan los aspectos nutricionales y antropométricos con los factores de riesgo cardiovascular.

Factores nutrigenómicos. Es una línea que inició nuestro Académico en la Universidad de Tufts (Boston) durante el año sabático que pasó en el laboratorio

de los Profesores Ordovás y Schaefer, donde además de familiarizarse con el estudio Framingham, se responsabilizó de dos proyectos sobre el papel de algunos genes candidatos en los efectos ejercidos por los fitosteroles en el metabolismo lipoproteico de pacientes con hipercolesterolemia. Al regresar a España inició una nueva línea de investigación sobre los beneficios potenciales de la inclusión en la dieta de derivados cárnicos funcionales, agua de alta mineralización y otros componentes nutritivos y su influencia en los marcadores de riesgo cardiovascular. Se está investigando la influencia de la presencia de algunas mutaciones en genes candidatos y su influencia en los marcadores de riesgo cardiovascular.

Finalmente debe señalarse su preocupación por definir los marcadores precoces del síndrome metabólico y el importante papel jugado por la dieta en su presentación y desarrollo. Otra línea, a la que se ha hecho mención antes, es la que trata de la fritura de los alimentos, iniciada en 1979 por el profesor Varela Mosquera y continuada luego por la Dra. Cuesta Lorenzo y nuestro nuevo académico. Sus publicaciones han sido ampliamente referenciadas internacionalmente.

Para completar estas líneas de investigación, el Dr. Sánchez Muniz ha dispuesto de 28 proyectos, 8 contratos con empresas agroalimentarias y ha participado en varias redes de investigación con financiación española e internacional. Su producción científica ha sido abundante: dirección de 13 memorias de fin de licenciatura en España, más 2 extranjeras, además de 21 tesis doctorales y 47 direcciones de Diplomas de Estudios Avanzados y memorias fin de Master. Es autor o coautor de 196 artículos en revistas científicas indexadas, 45 en otras no indexadas y 16 en revistas "on-line".

Sus trabajos han aparecido en las revistas de mayor prestigio en su campo, sirvan a título de ejemplo, las siguientes: British Journal of Nutrition, Clinical Nutrition, Obesity, Atherosclerosis, Food Chemistry, Nutrition Research, Pediatrics, European Journal of Pediatrics, etc. Como invitado de eventos nacionales e internacionales ha participado en 66 sesiones de congresos, mesas redondas, jornadas técnicas y otras actividades.

Con algunos miembros de su departamento publicó en 1986 unas Tablas de composición de alimentos españoles. Siete años más tarde publican Biodisponibilidad de micronutrientes y compuestos dietéticos menores. Al año siguiente aparece Carne y productos cárnicos como alimentos funcionales que firma con los doctores Jiménez Colmenero y Olmedilla Alonso y en 2005 ya está en las librerías el título Derivados cárnicos funcionales. Estrategias y perspectivas.

Es autor a su vez de un número elevado de capítulos de libro y forma parte del Consejo Editorial de la revista indexada Nutrición Hospitalaria.

DISCURSO DEL NUEVO ACADÉMICO

El discurso que acabamos de oír examina de forma exhaustiva los problemas científicos, técnicos y hasta éticos que comporta el tema de las relaciones entre Nutrición y Felicidad. Ni siquiera he entrado en el fondo del mismo para esta contestación preceptiva porque pienso que la exposición de nuestro nuevo académico ha sido suficiente y cabalmente examinada, de aquí que me sienta liberado de mi pobre aportación al tema y de una crítica que sería tan débil, como injusta. Lo que trataré de resaltar es la actualidad del tema elegido, la experiencia pionera de Sánchez Muniz y de sus sugerencias para el futuro. Se trata por tanto de una magistral lección en su género y muy propia para esta Academia.

Comienza su disertación el profesor Sánchez Muniz poniendo de manifiesto su respeto y admiración por D. Antonio Doadrio López, cuya medalla 19 y sillón habrá de usar en actos académicos solemnes nuestro nuevo académico, con ello - dice- surgieron en su mente “una mezcla de señales, un coctel de alegría, recogimiento, pequeñez, ansiedad y responsabilidad, difícil de integrar”.

Se refiere a continuación a quienes “desde hoy serán mis compañeros en mi deambular por la Academia y que han tenido a bien avalar mi candidatura” (son sus propias palabras).

También dedica unos sentidos recuerdos al profesor don Gregorio Varela Mosquera, que fue compañero de muchos que nos encontramos en este salón y que tuvimos el privilegio de compartir tareas con él, además de en esta Academia, en las Facultades de Farmacia y Veterinaria. Paco Sánchez Muniz lo retrató perfectamente con muy pocas pinceladas cuando se refiere a Varela diciendo que “...era una de esas personas dicharacheras, alegres y más listas que he conocido, vendía como nadie lo que hacía, ya que ponía ilusión y ganas”. Yo añadiría que era un madrileño de herencia e ironía galaicas con una sonrisa fácil y pícara. Fue un gran profesor, buen académico y excelente amigo.

Nuestro nuevo académico que se siente un “privilegiado de ser catedrático y maestro de algunos pocos” recuerda con cariño a la Dra. Muñoz Martínez su directora de memoria de licenciatura y tesis doctoral y a su maestro de EEUU, el Prof. José María Ordovás, paisano y amigo mío desde que Francisco Grande Covián dirigió su tesis doctoral en la Cátedra de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Ciencia Química de la Universidad de Zaragoza, en su segunda estancia o retorno en la capital de la Pilarica, merced a la ayuda y empeño de la Fundación Cuenca Villorrio.

La felicidad, el bienestar y el placer constituyen estados o condiciones de satisfacción y alegría. Como define nuestro amigo y recipiendario son situaciones transitorias, más o menos prolongadas, que resultan de las vivencias consecuentes a la falta de dolor miedo y disfrute de buena salud, pero en algunos estudios

científicos realizados en España sobre los índices de felicidad, por ejemplo el de la Fundación Coca Cola para la felicidad son un resumen de una vida buena basada en la triada mágica de la copla “salud, dinero y amor”.

Según la OMS, la salud es algo más que ausencia o falta de enfermedad, es asimismo “un estado de bienestar físico, mental y social”. Nuestro académico, señala con buen criterio, que estadísticamente un 43% de los componentes que influyen en la salud se deben o están relacionados con el estilo de vida, situación que incluye una vida activa, un ejercicio físico moderado, compatible con la edad y una dieta que contenga todos los componentes indispensables para cubrir las necesidades de energía y nutrientes de cada individuo, en cada situación fisiológico-temporal, de forma que se eviten las deficiencias nutricionales y disminuya el riesgo de patologías carenciales y degenerativas. Es más, añade nuestro nuevo académico, la dieta debe contribuir al bienestar mental y social aportando placer al acto de comer y felicidad individual y poblacional.

Sánchez Muniz en su discurso, trata también del placer y del rechazo de los alimentos. Hace hincapié en que todos nos mostramos temerosos o reticentes ante los alimentos que no forman parte de nuestro acervo cultural. Sin embargo, hace muy pocas semanas que uno de los ministros españoles recomendaba como fuente de proteínas el consumo de insectos y sus larvas, algo que la FAO hacía en la década de los años 60 del siglo pasado y que la OMS ha vuelto a recomendar recientemente.

Hoy se sabe que el placer de la comida viene determinado por la activación de ciertas zonas cerebrales relacionadas con el placer y/o el rechazo, el premio y la punición, en resumen la felicidad. Cuando el recién nacido succiona el pezón y capta su olor se desencadenan funciones inhibitorias de las hormonas frenadoras de la prolactina con lo que se produce la secreción láctea; también tiene lugar la producción de oxitocina que induce la eyección y flujo de leche por los conductos galactóforos. Los lactantes aprenden pronto a relacionar el placer o el rechazo de los olores y sabores de algunos alimentos.

Hoy se sabe que la felicidad es muy dependiente de ciertas zonas cerebrales de recompensa placentera que, como ha demostrado en su disertación el nuevo académico, le son muy familiares. Aunque ciertas ideas del discurso me superan, estoy seguro que el auditorio habrá sacado suficiente información sobre el tema y también sobre los circuitos dopaminérgicos, opioides y cannabinoides. Otro aspecto magistralmente tratado por el nuevo académico es el papel de los genes en la felicidad y en el placer de comer.

La descripción de situaciones que predisponen a comer es una lección magistral de los alimentos que constituyen la dieta mediterránea en la que la “Escuela de Varela” y por tanto, la de Paco Sánchez Muniz y sus colaboradores

tanto han escrito sobre el aceite de oliva, su fritura, termooxidación, antioxidantes, etc. En lo único que discrepo de mi querido amigo Paco es en que siga aferrado a la palabra mayonesa y no mahonesa, como admite el DRAE. Cuesta creer que, como dice el Diccionario de los Bender en 2010, fuese el Duque de Richelieu quien la inventó en 1757. En Mahón y en los hogares de toda Menorca se conocía como “mahonesa” muchos años antes de esa fecha.

El pan, su horneado, la reacción de Maillard, las clases de pan, su consumo y propiedades las aborda con detalle, lo mismo que el vino y la sal. La última, nutriente y condimento, la estudia Paco con sumo detalle lo mismo que los alimentos y bebidas dulces.

Los potenciadores del sabor, la elección de la comida y el “recuerdo emocional del alimento” son importantes en el momento de elegir los alimentos. De aquí la importancia del vino, de las guarniciones, de los postres, de los comensales y hasta de la disposición de la mesa y detalles del comedor (flores, velas, luces, etc.) en la elección de las comidas posteriores. Algo que se olvida en ocasiones en tiempos de crisis, como el que llevamos padeciendo hace ya tiempo, es que el sistema nervioso es uno de los más sensibles a la falta de nutrientes. Su pérdida altera la cantidad y calidad de neurotransmisores y receptores como los que inducen apoptosis, alteración de circuitos, pérdidas de memoria y alteraciones neurológicas seniles que llevan a depresiones variables.

Otros antagonistas de los receptores causan una vasodilatación moderada, vertidos en la sangre de renina y catecolamina, pérdida de orina y aumento del nivel metabólico y del peristaltismo intestinal. Por la activación de los receptores de adenosina de este sistema, la cafeína afecta a diversos neurotransmisores cerebrales como la dopamina, serotonina y noradrenalina. En la depresión los individuos pierden su autoestima y felicidad. Los ácidos grasos omega-3 desempeñan a este respecto un rol fundamental en la defensa frente a la depresión y degeneración. Todos estos aspectos los estudia a fondo en su discurso de ingreso el Académico Sánchez Muniz.

Señor Presidente, Señoras y Señores Académicos permitidme felicitar muy efusivamente a los familiares, colaboradores y amigos de nuestro Académico. Gracias a todos por vuestra presencia y de manera muy especial a Sara, su mujer, a sus hijos Francisco y Miguel, así como a sus hermanos Alejandro y Fernando que comparten la solemnidad y alegría íntima de este acto.

A ti, Paco, nuestra más cordial bienvenida a la Real Academia Nacional de Farmacia que hoy se ha vestido de gala para recibirte. En nombre del Excmo. Sr. Presidente y de todas las Excmas. y Excmos. Señores Académicos esperamos que tu entrega y dedicación al trabajo y tu preparación científica, así como tu capacidad

organizativa contribuyan día a día a enriquecer el acervo científico y cultural de esta noble institución.

He dicho.



Aclidinio, nueva molécula de investigación española con proyección internacional



Jorge Gallardo Ballart

Presidente de Almirall

Toma de posesión como académico correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. Sesión científica celebrada el 18 de abril de 2013.

An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 358-382

Excelentísimo Señor Presidente

Muy Ilustres Señoras y Señores Académicos,

Excelentísimos e Ilustrísimos Señores,

Señoras y Señores:

Deseo que mis primeras palabras, como Académico de esta Real Academia Nacional de Farmacia sirvan para expresar mi agradecimiento a todos los miembros que integran esta honorable corporación, por este nombramiento que sin duda constituye uno de los hechos más importantes de mi vida profesional.

La calidad científica y humana de los Muy Ilustres miembros de esta Real Academia, hace que por una parte me sienta honrado por haber sido admitido en ella, a pesar de mis modestas cualidades, y por otra me motiva para colaborar y apoyar las tareas propias de la Academia en cualquier momento y en todo lo que me sea posible.

Sin ánimo de personalizar mis agradecimientos, quisiera expresar mi más profunda gratitud al Excmo Sr Dr. Juan Tamargo al que admiro por su cualidad humana y al que reconozco su gran aportación científica como farmacólogo que ha contribuido al desarrollo de la Farmacología en nuestro país, y del que hemos aprendido a dar valor científico-práctico a la investigación de nuevos medicamentos.

Debo entender que con este nombramiento, esta Ilustre Corporación ha deseado una vez más expresar su reconocimiento a la tarea técnica y científica que la Industria Farmacéutica desarrolla y que ya ha reconocido en otras ocasiones,

con el nombramiento de los Muy Ilustres representantes que me han precedido como miembros de esta Academia y con quienes ahora tendré un motivo más para reforzar nuestra amistad y cooperación.

La labor que en el transcurso de 47 años he llevado a cabo en el campo farmacéutico, ha estado siempre vinculada a nuestra empresa familiar, Almirall. Es por ello que en estos momentos comparto la alegría, y también el mérito de este honor que recibo, con mi padre Antonio Gallardo Carrera (Fundador de Laboratorios Almirall) que confió en el desarrollo de la industria farmacéutica, como uno de los motores de progreso para nuestro país, que desgraciadamente ya no está con nosotros, y con mi hermano Antonio que ha estado a mi lado a lo largo de toda mi trayectoria profesional, compartiendo esfuerzos y responsabilidades. Permítanme que también agradezca a mi madre, a mi esposa, M^a Angeles, y a mis hijos que con su apoyo permanente son una ayuda y estímulo constante. Finalmente no quisiera acabar el capítulo de reconocimientos de gratitud sin recordar a todos los colaboradores de Almirall, que tanto han hecho y hacen para el buen desarrollo de la actividad farmacéutica, ya sea en el ámbito nacional como en el internacional y a todos los amigos y compañeros de la Industria Farmacéutica, los cuales con su presencia en este acto constituyen la afirmación de una verdadera amistad.

Si bien, la elección de un tema para este discurso de ingreso, que presentase suficiente contenido farmacéutico, me ha supuesto una serie de “aproximaciones sucesivas”, el escoger el título “Aclidinio, nueva molécula de investigación española con proyección internacional” ha estado motivado por dos razones principales: la primera porque personalmente creo que la investigación de nuevos medicamentos es una de las actividades profesionales que más me motiva y apasiona, y la segunda porque considero que la aportación de un nuevo fármaco, como es el caso de aclidinio, con reconocimiento internacional, es el colofón de un trabajo multidisciplinar en el que intervienen farmacólogos, médicos, galénicos, etc. y que en este caso concreto ha representado un esfuerzo de más de 12 años, que se ha visto recompensado en el año 2012 con la aprobación de su registro por parte de las autoridades sanitarias de Europa y Estados Unidos. Permítanme pues, que comparta alguna de mis vivencias con Udes.

INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Antes de centrarme en el tema del discurso, quisiera hacer unas referencias al sector de la Industria Farmacéutica que con su compromiso con la sociedad, contribuye a la mejora de la salud y de la calidad de vida de la población, y quiero aprovechar este foro para expresar un reconocimiento público a empresarios, creadores de una industria farmacéutica autóctona, permanentemente comprometida con la sociedad y con los avances de la farmacia.

También tengo en estos momentos un recuerdo muy sentido hacia la persona del Dr. Juan Manuel Reol Tejada (e.p.d.), antiguo Presidente de esta Academia y con el que tuve el placer de colaborar en diversas actividades relacionadas con la Industria Farmacéutica a la que siempre defendía, aportando criterio y sentido común con una amplia visión estratégica.

Tras estos reconocimientos a nivel empresarial nos podemos preguntar: ¿Es posible aunar los objetivos de desarrollo económico de una empresa con una actuación social responsable? La respuesta es sí y, de hecho cada vez más empresas se están dando cuenta de lo importante que es adaptar su gestión y sus estrategias al nuevo paradigma de hacer frente al impacto social de su negocio.

El sector farmacéutico, como sector de alto valor añadido y comprometido con la sociedad ha sido pionero en la incorporación de nuevos criterios, tanto en su gestión como en su estructura y cultura empresarial. Las iniciativas con las que se implica se toman de acuerdo a principios de transparencia, ética y progreso económico y social, y esto se traduce con actividades concretas, muy especialmente con un compromiso en la tarea dirigida al descubrimiento de nuevos medicamentos.

La aportación de nuevos medicamentos ,es una realidad permanente que ya los farmacéuticos de antaño tenían presente cuando incorporaban sus conocimientos y criterios de innovación en la preparación de fórmulas magistrales en sus farmacias, contribuyendo con ello a los avances de la terapéutica y la galénica.

Prevenir enfermedades, restablecer la salud y mejorar la calidad de vida de los enfermos son objetivos primordiales, y ello se consigue innovando e investigando nuevas herramientas terapéuticas para dar respuesta a las necesidades de los pacientes, profesionales sanitarios, y administraciones.

Mantener la confianza de todos estos colectivos en el valor de la investigación, es uno de los principales retos y más valiosos activos a los que la industria quiere dar respuesta con la aportación de rigor y nivel científico.

COMPROMISO Y VOCACIÓN INVESTIGADORA DE LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

En España los laboratorios que destacan por su vocación investigadora y confían en ella destinan una parte importante de sus recursos económicos (10-15% de sus ventas) al desarrollo de planes y estrategias de I+D.

Debemos recordar que el máximo exponente del esfuerzo investigador en nuestro país es precisamente la industria farmacéutica, por delante de sectores tales como el aeronáutico o el de las telecomunicaciones, y prueba de ello es que a lo largo del año 2012 invirtió en España más de 970 millones de euros en I+D, lo que representa el 19% del gasto total en I+D llevado a cabo por el conjunto de sectores

industriales en nuestro país. Además, dio empleo a más de 4400 personas destinadas específicamente a este fin.

Por otra parte, el compromiso de la industria farmacéutica con la I+D también queda reflejado con otros hechos. A modo de ejemplo, quisiera recordar la importante aportación anual que en concepto de tasa las empresas ingresan al Estado, para financiar parte de la investigación pública de nuestro país.

Además hay que destacar que este compromiso también se traduce con otras muchas acciones, tales como el aumento constante de colaboraciones con las Universidades, Centros Públicos de Investigación y Parques Científicos, el esfuerzo permanente en la formación de sus científicos, las mejoras de infraestructura o en la creación de centros de I+D de alta tecnología, como el que tiene Almirall, el cual por su características y recursos destinados, constituye el mayor centro de I+D de una industria farmacéutica en España.

Por tanto, la oferta de nuevos medicamentos va a estar condicionada fundamentalmente por la industria farmacéutica con vocación científica, que cree que la investigación además de ser una responsabilidad social, también representa una garantía de futuro a nivel empresarial.

El desarrollo de esta vocación investigadora va acompañada de un aumento de la complejidad actual en I+D debido a que los organismos reguladores son cada vez más exigentes a la hora de conceder la autorización de comercialización de los medicamentos, solicitando bases de datos mayores para confirmar la eficacia y verificar la seguridad y ello se ha traducido en un aumento del número promedio de pacientes en los ensayos clínicos, con una prolongación de los tiempos de desarrollo del fármaco (10 a 12 años), así como un mayor número de fracasos en las últimas etapas de investigación, lo que contribuye al elevado coste (800-900 millones de euros) que representa lanzar un nuevo medicamento.

Con todo lo expuesto creo que es obvio considerar que la complejidad de la I+D y el elevado nivel de exigencia reguladora requiere de un gran esfuerzo, tanto económico como tecnológico, y que a pesar de ello Almirall, le destina una parte importante de sus recursos.

ALMIRALL: EMPRESA ESPAÑOLA COMPROMETIDA CON LA I+D

Almirall fue fundada en el año 1943 en Barcelona, y en el 1944 inició su actividad industrial y comercial. En los años 70, comenzó su actividad de I+D.

En su evolución, Almirall se ha transformado en una compañía farmacéutica multinacional, considerada en la actualidad como la primera empresa farmacéutica nacional.

En la actualidad, Almirall dispone de 13 filiales repartidas entre Europa, México y Canadá, 3 centros de I+D, 5 centros de producción y una plantilla global de más de 3000 colaboradores de los que más de 500 se dedican a la I+D.

Para cumplir con su objetivo en I+D, Almirall ha definido una estrategia basada en tres pilares:

- 1. Tecnologías punteras y profesionales excelentes**
- 2. Foco terapéutico claro y definido**
- 3. Desarrollo integrado de productos**

El éxito de esta estrategia queda avalado por los resultados de los que hablaré más adelante, y de la cartera de proyectos que en la actualidad están en fase avanzada de desarrollo, y que es la más extensa y prometedora de la historia de la Compañía.

Para afrontar los retos del futuro, Almirall dispone de infraestructuras como su Centro de I+D en Sant Feliu de Llobregat (Barcelona), inaugurado por el Rey Don Juan Carlos I en el año 2006, que cuenta con una plantilla de más de 400 colaboradores (farmacéuticos, químicos, biólogos, médicos y otros especialistas altamente cualificados).. Este centro de 27.500 m² supone la mayor inversión hecha en I+D por la industria farmacéutica y actualmente es un centro de referencia a nivel nacional en investigación biomédica.

Además, Almirall dispone de un centro de excelencia en tecnología inhalatoria ubicado en Bad Homburg (Alemania), donde trabajan más de 100 expertos en innovación galénica para la administración de fármacos por vía inhalatoria. Almirall cuenta también con un equipo de 40 profesionales ubicado en Reinbek (Alemania) que está focalizado en la I+D dermatológica.

El equipo de I+D centra sus esfuerzos en la identificación y el desarrollo de nuevos fármacos en áreas terapéuticas estratégicas que combinan una necesidad médica no cubierta con una patofisiología subyacente común, tal como las enfermedades respiratorias, alteraciones dermatológicas y trastornos gastrointestinales.

Para centrarme en el título de este discurso voy a referirme solamente a la investigación en el área respiratoria.

OBJETIVO CIENTÍFICO Y NECESIDAD TERAPÉUTICA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC)

Definición de la EPOC

Las guías GOLD (Iniciativa Global para la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica), son unas guías consensuadas por las sociedades médicas más importantes en el ámbito respiratorio que definen la EPOC como una:

"enfermedad evitable y tratable, con algunos efectos extrapulmonares significativos que pueden contribuir a la gravedad de la condición de algunos pacientes".

Su componente pulmonar se caracteriza por una limitación del flujo aéreo, el cual no es completamente reversible. Dicha limitación del flujo aéreo es, generalmente, progresiva y se asocia con una respuesta inflamatoria anormal del pulmón a partículas o gases nocivos.

Epidemiología

Según la Organización Mundial de la Salud ,250 millones de personas en todo el mundo padecen la EPOC. En 2009 más de 5 millones de personas murieron por esta enfermedad, lo que supuso el 4,8% del total de las defunciones registradas en aquel año . Se estima que en España la padece el 10.2% de la población entre 40 y 80 años y representa el 2% del presupuesto sanitario anual.

La OMS pronostica que en el 2030 la EPOC será la causante del 7,8% de todas las muertes y del 27% de las muertes relacionadas con el tabaco, solo superada por el cáncer (33%) y por las enfermedades cardiovasculares (29%). En este contexto es de destacar que el riesgo de cáncer de pulmón, que es el más frecuente entre todas las neoplasias, y el de la enfermedad cardiovascular, aumenta significativamente en quienes padecen EPOC.

Además de estas cifras de mortalidad se prevé que su prevalencia también aumente hasta bien entrado el siglo XXI debido a que hoy en día hay más personas que fuman que en cualquier otro momento de la historia de la humanidad y a que los cambios demográficos asociados al envejecimiento de la población favorecen el incremento de la prevalencia de la EPOC.

Tradicionalmente ha existido una carencia secular de datos epidemiológicos sobre las enfermedades respiratorias en general, y sobre la EPOC en particular, lo que explica en gran medida la desproporción entre la magnitud del problema y su bajo impacto en la opinión pública, así como la reducida percepción de la necesidad y urgencia de paliar el problema. Además la EPOC es, debido **al** infradiagnóstico, un ejemplo claro de que el problema podría ser mayor del objetivado debido a un efecto "iceberg".

Patología

Los síntomas característicos de la EPOC incluyen disnea (falta de aire) crónica y progresiva, tos y producción de esputo, que se manifiestan sobretodo en relación al esfuerzo, pero que al avanzar la enfermedad se pueden hacer manifiestas y continuas, incluso en reposo. Esta enfermedad afecta profundamente la calidad de vida del paciente y produce una gran discapacidad. Además, a pesar de que la EPOC es principalmente una enfermedad pulmonar, también presenta manifestaciones sistémicas significativas. Los pacientes con EPOC corren mayor riesgo de padecer enfermedades concomitantes como enfermedad cardiovascular, diabetes, atrofia muscular y osteoporosis.

El diagnóstico de la EPOC y la clasificación de su gravedad se pueden establecer de forma sencilla, mediante una prueba de espirometría, disponible en la mayoría de hospitales y centros de salud. Se clasifica como "leve", "moderada", "grave" y "muy grave", basándose en el cociente entre el volumen espiratorio forzado en 1 segundo (FEV₁) por el sujeto, en relación a los valores teóricos que le corresponderían al mismo, según su edad, talla y sexo. Esta prueba se realiza siempre tras la administración de un broncodilatador de acción rápida, que permite reflejar el grado de obstrucción bronquial en las mejores condiciones posibles (tras el broncodilatador).

El paciente con EPOC leve, tiene una ligera limitación de flujo de aire; los síntomas de tos y producción de esputo pueden o no estar presentes, y el individuo, generalmente no tiene conocimiento de que la función de sus pulmones es anormal. La EPOC moderada se caracteriza por el empeoramiento de la limitación de flujo de aire, lo cual provoca falta de aire al hacer esfuerzos, y también puede presentarse tos y producción de esputo. A medida que la EPOC progresa y se vuelve grave, la limitación del flujo de aire empeora al igual que la dificultad para respirar, se reduce la capacidad de ejercicio, aumenta la fatiga y existe una mayor frecuencia de exacerbaciones. La EPOC muy grave se puede asociar con la insuficiencia respiratoria crónica. A medida que se agravan los síntomas en la EPOC, así como la frecuencia de las exacerbaciones, la calidad de vida del paciente se ve afectada de manera importante.

Frente a esta patología la investigación en EPOC debe incluir los siguientes objetivos:

- 1. Alivio de los síntomas**
- 2. Mejora de la tolerancia al ejercicio.**
- 3. Mejora del estado de salud.**
- 4. Prevención de la evolución de la enfermedad.**
- 5. Prevención y tratamiento de las complicaciones.**
- 6. Prevención y tratamiento de las exacerbaciones.**

7. Reducción de la mortalidad.

Los broncodilatadores son fundamentales para el tratamiento sintomático de la EPOC y se pueden administrar para aliviar los síntomas agudos o como tratamiento de mantenimiento para la prevención o reducción de los síntomas. Las guías terapéuticas recomiendan el uso regular de uno o más broncodilatadores de acción prolongada. En la actualidad se utilizan broncodilatadores tales como los agonistas beta₂, los antagonistas muscarínicos, la teofilina o alguna combinación de estos fármacos.

Elección del broncodilatador

La terapia depende de la disponibilidad y la respuesta individual en términos de mejora de los síntomas y la tolerabilidad. Los nervios parasimpáticos son la vía neuronal predominante en el origen de la broncoconstricción de las vías respiratorias, y el tono colinérgico es el principal componente reversible en la EPOC. Los mecanismos colinérgicos son también importantes en la regulación de la secreción de las glándulas submucosas, que se halla incrementada en la EPOC. Los nervios parasimpáticos ejercen su efecto broncoconstrictor y el incremento de la secreción de moco a través de la activación de los receptores muscarínicos en el músculo liso bronquial y las glándulas submucosas, respectivamente. El bloqueo de estos receptores muscarínicos con antagonistas de larga duración proporcionan un beneficio clínico en EPOC, regulando la secreción mucosa y reduciendo la contracción de la musculatura bronquial, minimizando con ello el uso de recursos sanitarios y reduciendo el impacto que tiene la enfermedad sobre las instituciones sanitarias y la sociedad.

Diana farmacológica

Actualmente, hay cinco subtipos de receptores muscarínicos conocidos (M₁-M₅). La musculatura lisa bronquial contiene receptores M₁, M₂ y M₃.

Los receptores M₁ se localizan en los ganglios parasimpáticos en las vías respiratorias facilitando la neurotransmisión a través de estos ganglios. Los receptores M₁ se encuentran también expresados en poca densidad en las glándulas submucosas de las vías respiratorias humanas. Los receptores M₂ se encuentran en las fibras musculares lisas y no parecen tener un papel directo en la contracción. Los receptores M₃ son los que median la contracción del músculo liso en el tracto respiratorio y la secreción de moco, por lo que son un objetivo importante para el alivio sintomático de la EPOC. En consecuencia, en las vías respiratorias, la principal acción de los antagonistas muscarínicos es la broncodilatación y la reducción de la secreción de moco a través del bloqueo de los efectos de la acetilcolina liberada por sistema nervioso parasimpático.

Los tratamientos disponibles para el tratamiento de la EPOC

Desde los años 70 se han utilizado los fármacos antagonistas inhalados de corta duración para el tratamiento sintomático en pacientes con EPOC como primera línea de tratamiento y se conoce que son broncodilatadores seguros y eficaces. Una limitación de estos agentes es la necesidad de una dosificación frecuente (que en algunos casos llega hasta a 6 veces al día). En la actualidad existen cuatro broncodilatadores de larga duración que están disponibles para los pacientes con EPOC; un antagonista muscarínico de acción prolongada (tiotropio), y tres β_2 -agonistas de larga duración (formoterol, salmeterol e indacaterol). La EPOC es, por tanto, no sólo una enfermedad con una alta prevalencia y con morbilidad y mortalidad significativas, sino también con limitadas opciones de tratamiento.

Es bien conocido que el tratamiento con antagonistas muscarínicos puede ocasionar efectos secundarios que dependen del nivel de exposición sistémica, y que el tratamiento con agonistas del receptor β_2 puede inducir efectos cardiovasculares indeseables.

Parece evidente por tanto que el manejo de la EPOC puede ser mejorado a través del desarrollo de nuevas moléculas que proporcionen beneficios terapéuticos adicionales y que reduzcan al mínimo los efectos secundarios no deseados y los riesgos del tratamiento, especialmente en pacientes de edad avanzada que padecen otras patologías y que se encuentran sometidos a polimedicación.

PROCESO DE INVESTIGACIÓN DEL PROGRAMA ANTIMUSCARÍNICO .DE LA IDEA A LA INNOVACIÓN

En este contexto, en el año 1996, tras un minucioso análisis de las necesidades de los pacientes de EPOC, Almirall inició un programa de investigación basado en la búsqueda de un antagonista muscarínico específico de larga duración , que cumpliera una serie de premisas identificadas como necesidades médicas no cubiertas.

Las tres premisas básicas fueron

- 1. Mejorar el control de los síntomas de la enfermedad desde el primer día de tratamiento, y asegurando un control de los síntomas a lo largo de 24 horas.**
- 2. Fármaco con bajos y transitorios niveles plasmáticos así como con un metabolismo 'limpio' que evite interacciones medicamentosas, para poder emplearlo en pacientes polimedicados.**
- 3. Desarrollar un dispositivo de inhalación para mayor comodidad de los pacientes y mejorar el cumplimiento en la toma de la medicación.**

Para la obtención de un producto que cumpliera estas premisas básicas se decidió diseñar moléculas con propiedades antagonistas de los receptores muscarínicos con elevada afinidad y largo tiempo de residencia en los receptores M₃, pero con una estructura susceptible de rápida hidrólisis plasmática y que cumpliera los requisitos para ser administrado con un inhalador de polvo seco y multi-dosis.

Esto nos permitiría proporcionar una larga duración de acción broncodilatadora en el órgano diana y una mejora en la comodidad de los pacientes en la gestión del tratamiento, además de un mayor cumplimiento en la toma de la medicación y control de los síntomas.

Disponer de un compuesto que además de ser potente y con larga residencia en el receptor M₃, tuviese una estructura susceptible de ser hidrolizada nos permitía, que todo aquel compuesto no unido al receptor bronquial, al pasar a la circulación sanguínea se rompiera rápidamente en dos metabolitos inactivos. De este modo se evitaba la exposición plasmática al producto activo y se minimizaban los efectos secundarios debidos al propio mecanismo de acción fuera del pulmón. Esta cualidad también sería decisiva para la combinabilidad del compuesto con otros medicamentos, dado que la capacidad de interacción medicamentosa en el organismo era mínima debido a la nula exposición el compuesto en el plasma.

La elevada potencia por el receptor M₃ y sus características de inestabilidad plasmática, evitarían la acumulación del compuesto, lo que nos permitiría no estar limitados en la dosis a administrar y por tanto podríamos obtener la eficacia máxima desde el primer día.

Es así como en febrero de 1999, se identificó un compuesto que cumplía con todos estos requisitos, denominado en aquel momento LAS 34273 (posteriormente bromuro de aclidinio), iniciándose su desarrollo preclínico, farmacéutico y clínico.

La molécula LAS 34273, representaba la culminación de tres años de investigación intensa a lo largo de cual Almirall aplicó por primera vez metodologías de síntesis química en paralelo, también conocidas como química combinatoria, que contribuyeron conjuntamente con la química clásica a la síntesis de alrededor de 1.200 nuevos compuestos. Todos estos compuestos fueron evaluados a través de una compleja cadena de ensayos biológicos y modelos preclínicos novedosos, destinada a la identificación de un potencial fármaco que mostrase los requerimientos necesarios para ser considerado como candidato a desarrollo.

SELECCIÓN DE ACLIDINIO Y PERFIL FARMACOBIOLOGICO

Aclidinio muestra afinidad **potente y selectiva** por los receptores muscarínicos humanos, mayor selectividad cinética por los receptores M₃ que por los M₂ y de larga duración de acción en modelos preclínicos. El receptor M₃, como se ha mencionado anteriormente, es el subtipo de receptor clave a través del cual se producen los efectos terapéuticos relevantes de los antimuscarínicos: relajantes musculares y broncodilatadores. En consecuencia, la vida media de residencia en el receptor M₃ obtenida para aclidinio sugiere una larga duración de acción *in vivo*.

La interacción de los compuestos con los receptores M₂ es interesante más allá de su posible implicación en la eficacia, porque la inhibición de los receptores M₂ cardíacos se sabe que induce taquicardia, que es potencialmente el efecto secundario más grave asociado con agentes antimuscarínicos. El hecho de que la residencia de aclidinio en el receptor M₂ sea inferior que la que posee en el subtipo de receptor M₃ es un fenómeno positivo ya que minimiza el potencial efecto taquicardizante de este compuesto con larga duración de acción broncodilatadora.

A nivel experimental la respuesta broncodilatadora de aclidinio fue inicialmente evaluada en preparaciones de músculo liso traqueobronquial de cobayo, así como en muestras provenientes de bronquio humano, en respuesta a agentes broncoconstrictores. En estos estudios aclidinio mostró una elevada potencia relajante traqueobronquial, tanto en animales de experimentación como en muestras humanas, así como una larga duración de acción.

El efecto broncodilatador de aclidinio también fue evaluado en diferentes modelos animales de experimentación. En todos ellos aclidinio resultó un potente broncodilatador y con larga duración de acción.

Una de las características más particulares y únicas del aclidinio es que a diferencia de otros antagonistas muscarínicos, como el tiotropio, el ipratropio o el glicopirrolato, aclidinio muestra una rápida hidrólisis en el plasma humano, lo que resulta en una exposición sistémica muy baja y transitoria.

El resultado de esta hidrólisis son dos metabolitos desprovistos de actividad, que se traduce en un perfil de seguridad excelente y similar al del placebo.

La mayor selectividad cinética para M₃ sobre receptores M₂, combinada con la rápida degradación en el plasma, tiene implicaciones importantes de seguridad y se refleja en un potencial mínimo de acontecimientos adversos en la práctica clínica.

SELECCIÓN Y DISEÑO DEL DISPOSITIVO GENUAIR®

Tal y como he comentado anteriormente, en el año 1999, y tras un amplio screening farmacológico, se seleccionó aclidinio para el tratamiento local de la EPOC en el pulmón de los pacientes, y por lo tanto se requería de un dispositivo de inhalación para su administración.

Tecnología de inhalación

La tecnología de inhalación en la industria farmacéutica se utiliza principalmente en 2 áreas terapéuticas: el asma y la EPOC. Ambas dolencias se tratan preferiblemente por aplicación local del fármaco activo en la superficie del pulmón. Esto permite la interacción directa de la medicación con la enfermedad, a la vez que minimiza los efectos secundarios. No obstante, existen retos significativos asociados con la administración de fármacos en el pulmón, pues el cuerpo humano está dotado de un sistema de filtros muy sofisticado para evitar que entren partículas en este órgano sensible.

Sólo partículas muy pequeñas pueden alcanzar las partes más distales del pulmón. Es generalmente aceptado que sólo partículas cuyos tamaños se encuentren por debajo de 5 micras son capaces de ser inhaladas. Por establecer una comparación, si en la arena muy fina de playa encontramos granos sobre las 200 micras de tamaño, para las partículas de inhalación, el tamaño tiene que ser 30 veces más pequeño todavía.

Por lo tanto, los principales retos para la administración de fármacos por la vía inhalatoria son los siguientes:

1. El fármaco tiene que dispersarse en el aire y formar una nube estable de partículas que el paciente pueda inhalar.
2. Las partículas individuales dispersas del fármaco tienen que ser de un diámetro aerodinámico inferior a 5 micras.

La industria resuelve estos problemas mediante el uso de sistemas de dispersión, que generan una fina nube de partículas listas para ser inhaladas por el paciente. Los sistemas de dispersión más relevantes son a) los nebulizadores, (b) los inhaladores de dosis metrada presurizada (MDI, siglas en inglés) y (c) los inhaladores de polvo seco (DPI, siglas en inglés).

Los nebulizadores utilizan una solución o suspensión de partículas de fármaco en agua y generan una nube "húmeda" de partículas finas, que el paciente inhala.

Los MDI a veces también llamado "puffers" contienen el fármaco disperso en un propelente que se licua debido a la alta presión, todo ello en el interior de un cartucho a alta presión. Para inhalar, cuando los pacientes accionan una válvula, se libera una pequeña porción del propelente líquido que contiene el fármaco, éste se

expande rápidamente y genera la nube de partículas finas necesarias para ser inhaladas por el paciente.

El Inhalador de polvo seco es la forma más común hoy en día de los dispositivos de inhalación, contienen el fármaco en forma de polvo finamente micronizado. El paciente respira (inhala) a través del inhalador de polvo seco y así dispersa el polvo contenido en una fina nube que es inhalada. A diferencia de MDIs los inhaladores de DPIs no necesitan de la sincronización entre la activación del inhalador y la maniobra de aspiración, no contienen propelentes químicos y no producen la sensación local de frío tras la inhalación originada por el aerosol.

Necesidad de un nuevo inhalador

Actualmente existen diversos inhaladores de tipo DPIs con variados diseños, características operacionales y rendimiento. Los inhaladores DPIs de dosis única, requieren de una compleja operación (en ocasiones hasta 7 pasos son necesarios para la preparación del inhalador) de rellenado manual con una capsula de gelatina conteniendo el fármaco, que hacen muy compleja y en algunos casos difícil su utilización. Dadas las limitaciones de estos inhaladores existía una clara necesidad de desarrollar inhaladores multidosis de polvo seco que además de simplificar el proceso de medicación y cumpliendo con las más exigentes normativas regulatorias, provean a los pacientes de un completo sistema de información acerca de la correcta toma de la medicación.

Tecnología de inhalación de Almirall: Genuair

Con el objeto de diseñar un nuevo inhalador que cumpliera estos requisitos, en Junio de 2006, Almirall incorporo a su estructura de I+D la empresa Sofotec (ubicada en Bad Homburg, Alemania) para ampliar las capacidades de desarrollo inhalatorio de la compañía. Los 40 años de experiencia de este grupo en el desarrollo de dispositivos de inhalación, junto con el trabajo realizado en el equipo de investigación del Centro de I+D de Sant Feliu, han sido las claves para el éxito del desarrollo de la tecnología de inhalación de Almirall. Dicha tecnología tiene como plataforma el inhalador Genuair® (también llamado Pressair® en los EE.UU.), un inhalador de polvo seco basado en un sistema de reservorio.

Este dispositivo contiene hasta 200 dosis de la medicación en un cartucho dentro del inhalador. El fármaco, finamente micronizado, está disperso sobre las partículas de un material soporte, un excipiente comúnmente usado en la industria farmacéutica, la lactosa.

Antes de la inhalación, el paciente ha de presionar un botón, liberando de este modo una sola dosis de la medicación, que es medida en una cavidad deslizante. Ésta dosis se mantiene preparada en el canal de inhalación para que el paciente inicie la inhalación a través del ciclón.

El polvo dispensado desde el cartucho o reservorio es aspirado por la fuerza inspiratoria del paciente a través del ciclón. El polvo conteniendo el fármaco se desagrega de su vehículo, la lactosa, en fragmentos finos mediante el impacto de las partículas contra las paredes del ciclón y esto resulta en una nube de finas partículas listas para ser inhaladas.

Una vez que el paciente ha inhalado este polvo fino este se deposita en la superficie interna de los pulmones, donde el fármaco puede interactuar con la diana terapéutica pulmonar a la que va dirigida.

Además el inhalador lleva incorporadas una serie de funciones de seguridad e información al paciente, como son el indicador de dosis, el sistema de bloqueo al finalizar su vida útil, y el sistema de prevención de dosis múltiples.

DESARROLLO CLÍNICO DE ACLIDINIO

Ya con el dispositivo seleccionado, en julio de 2006 Almirall inició dos grandes ensayos clínicos globales de Fase III con una dosis de 200 microgramos una vez al día , que incluyeron 1.567 pacientes con EPOC moderada a grave en centros de investigación clínica distribuidos por todo el planeta. Los resultados de estos estudios mostraron que aclidinio mejoraba significativamente la función pulmonar y la calidad de vida asociada a la enfermedad en relación al grupo placebo. Además aclidinio demostró ser seguro y bien tolerado durante el año que duraron los estudio. Los resultados de ambos estudios se conocieron durante el año 2008 , pero desafortunadamente no alcanzaron los valores de mejora clínica esperados para asegurar su competitividad clínica y su éxito comercial, lo cual supuso un tremendo golpe para la moral de la compañía y fue necesario un tiempo de reflexión y de introspección para determinar cuáles habían sido los errores de cálculo que habían llevado a unos resultados imprevistamente menores a los esperados.

Tras varios análisis en profundidad de los resultados de dichos estudios, se llegó a la conclusión que la dosis y la pauta de administración de aclidinio debían ser modificados para obtener su óptimo efecto, ya que las conclusiones de dichos análisis apuntaban a que los estudios habían sido realizados con una dosis sub-óptima.

A pesar del revés recibido por los resultados de dichos estudios, Almirall siguió confiando en el producto, y lejos de desfallecer, decidió diseñar un nuevo programa que incluía una serie de estudios para evaluar un nuevo esquema de dosis. Estos estudios se iniciaron en septiembre de 2009. El primero de ellos fue un pequeño estudio de Fase II, en el que se compararon aclidinio contra tiotropio y placebo en una selección de pacientes EPOC .

En este estudio, aclidinio (400 µg /12h) demostró un efecto broncodilatador a lo largo de 24 horas, que fue no sólo estadísticamente superior sino también clínicamente mayor al del placebo. Además, el tratamiento con aclidinio dio lugar a una broncodilatación significativamente mayor que la del tiotropio desde el día 1 hasta el día 15 de tratamiento. Dichos resultados fueron vitales para confiar de nuevo en el potencial de aclidinio. Tras este estudio se iniciaron de nuevo las actividades clínicas destinadas al registro de la nueva dosis de aclidinio en el dispositivo, Genuair®

Almirall y su colaborador norte-americano Forest Laboratories, se embarcaron de nuevo en un extenso programa de desarrollo clínico global para aclidinio 400 µg dos veces al día (BID), que se llevó a cabo en Europa, Norte América y Sudáfrica, e incluía dos estudios de Fase II, tres estudios pivotaes de eficacia, tres estudios de seguridad a largo plazo de Fase III y cinco estudios complementarios.

Propiedades biofarmacéuticas y farmacología clínica del aclidinio

Entre los estudios complementarios figuran estudios clínicos para investigar las propiedades biofarmacéuticas del aclidinio, como el estudio sobre su deposición pulmonar, el de la biodisponibilidad absoluta o el estudio de flujo inspiratorio máximo, muy importante para demostrar que incluso los pacientes con broncoconstricción severa son capaces de emplear el dispositivo Genuair® de forma eficaz y segura.

Estudios con biomaterial humano demostraron las propiedades de unión de las proteínas del plasma, su biotransformación y sus interacciones medicamentosas posibles. Los estudios de farmacología clínica proporcionaron información de su farmacocinética y el potencial efecto de la edad o de insuficiencia renal en su metabolismo y farmacocinética. Otros estudios además fueron necesarios para determinar la absorción, distribución, metabolismo y eliminación del aclidinio. Así mismo, entre dichos estudios fue preciso llevar a cabo uno de seguridad cardiovascular para descartar el potencial efecto tóxico sobre la conducción cardiaca. Cabe destacar que todos estos estudios dieron unos resultados más que satisfactorios

Eficacia clínica de aclidinio

La eficacia preliminar de aclidinio BID se investigó en dos estudios de Fase II, lo cual permitió determinar su perfil broncodilatador en relación con el del tiotropio y formoterol, dos broncodilatadores bien conocidos y ampliamente empleados en el tratamiento de la EPOC.

El programa pivotal confirmatorio de eficacia de Fase III constó de tres grandes estudios doble ciego, "aleatorizados", de grupos paralelos y controlados con placebo, los cuales evaluaron dos dosis de aclidinio, 400 µg y 200 µg administrados dos veces al día. Uno de dichos estudios (llevado a cabo en Europa y

Sudáfrica) fue de 24 semanas de tratamiento y los otros dos (llevados a cabo en Estados Unidos de América y Canadá) de 12 semanas de tratamiento. Los diseños de los estudios y la población objetivo de todos ellos fueron similares. Además, tres estudios adicionales de hasta 52 semanas de duración aportaron más datos sobre la seguridad y eficacia mantenida a largo plazo.

Variables de eficacia

Se evaluó un extenso rango de variables de eficacia en todo el programa de desarrollo clínico, ya que existen diferentes objetivos del tratamiento para una atención efectiva de la EPOC dentro de la población diana. Los objetivos del tratamiento que se aplican al desarrollo de un broncodilatador anticolinérgico incluyen: alivio de los síntomas, mejoría del estado de salud, mejoría en la tolerancia al ejercicio, así como la prevención y el tratamiento de las exacerbaciones.

Las medidas de eficacia que se incluyeron en los tres estudios pivotaes fueron:

La función pulmonar, evaluada utilizando las medidas espirométricas de la función pulmonar (FEV₁, capacidad vital forzada y la capacidad inspiratoria, las cuales son medidas bien reconocidas y que se usan de manera frecuente .

El uso de tratamiento de rescate con broncodilatadores de acción rápida (salbutamol) se incluyó como una medida indirecta del impacto en los síntomas

Los resultados de todos los estudios clínicos llevados a cabo ofrecen evidencia de un perfil de producto que se puede resumir en los siguientes puntos:

-Broncodilatación: El efecto principal y más inmediato y directo.

Aclidinio 400 µg administrado cada 12 horas se asocia con efectos broncodilatadores clínicamente significativos que son evidentes a lo largo de todo el día. Dichos efectos, inician dentro de los 30 minutos tras la primera dosis. La broncodilatación máxima se alcanza dentro de las 3 horas después de la dosis y su efecto se mantiene durante todo el periodo de tratamiento.

-Disnea

Un porcentaje estadísticamente mayor de pacientes tratados con 400 µg aclidinio BID tuvieron una mejoría clínicamente significativa en la dificultad para respirar en comparación con placebo.

-Estado de salud específico de la enfermedad

Un porcentaje estadísticamente y significativamente mayor de pacientes tratados con 400 µg de aclidinio BID, en comparación con placebo, experimentaron una mejoría clínicamente significativa en el estado de salud específico de la enfermedad.

-Síntomas diarios, síntomas nocturnos y síntomas matutinos

La administración de 400 µg/12h de aclidinio mostró mejorías estadísticamente significativas en los síntomas diarios como dificultad para respirar, síntomas torácicos, tos y esputo, en la producción nocturna de esputo y en los síntomas nocturnos y matutinos de falta de aliento y tos en relación al placebo.

-Uso del tratamiento de rescate

Con la dosis de 400 µg de aclidinio BID se observaron reducciones estadísticamente significativas, en comparación con placebo en el uso diario del tratamiento de rescate; una observación la cual refleja la mejora en los síntomas después del tratamiento con aclidinio.

-Control de las exacerbaciones agudas de la EPOC:

Los estudios mostraron una reducción en la frecuencia de exacerbaciones (aproximadamente del 30%) con el aclidinio que fue estadísticamente significativa, independientemente del método utilizado para su determinación.

Perfil de seguridad

La tolerabilidad del medicamento es un desafío particular para los pacientes con EPOC dado que regularmente experimentan comorbilidades y, por lo tanto, reciben medicamentos concomitantes a menudo. La incidencia general de eventos adversos fue similar en los grupos tratados con aclidinio y en el grupo tratado con placebo. Además, la incidencia de eventos adversos anticolinérgicos posibles individuales fue baja; no se reportó un evento en más del 1.1% de los pacientes tratados con 400 µg de aclidinio.

Además, no se observaron diferencias en los niveles de aclidinio en sangre ni en el perfil de eventos adversos en los pacientes de edad avanzada, ni tampoco en los pacientes con insuficiencia renal, en comparación con el de pacientes jóvenes y sanos.

Dado que aclidinio se metaboliza por escisión química y enzimática en el plasma, no es muy probable que la disfunción hepática altere su exposición sistémica.

Dispositivo de inhalación

Como ya hemos comentado el aclidinio se administra mediante el inhalador Genuair®, del cual se reportó una facilidad de manejo por el 85% o más, de los pacientes en los estudios principales del programa clínico. El fácil manejo de Genuair® puede representar una ventaja sobre los otros dispositivos utilizados con broncodilatadores.

REQUERIMIENTOS REGULATORIOS . ABORDAJE INNOVADOR EN LA PRESENTACIÓN DEL REGISTRO

Además de la complejidad científica y técnica de este desarrollo, otro aspecto del que nos sentimos muy orgullosos es en la estrategia utilizada en la presentación del Registro a las Autoridades Sanitarias, consiguiendo que aclidinio fuera la primera molécula de origen español aprobada por el proceso centralizado.

Compilación del Dossier de Registro

La presentación del dossier de registro para obtener la autorización de comercialización de aclidinio ha sido la culminación de numerosos años de esfuerzo de multitud de personas que cubren todas las disciplinas contenidas en una empresa farmacéutica. El proceso de compilación de lo que se denomina “Dossier de Registro” o “Solicitud de Autorización de Comercialización” empezó con los resultados primarios de los estudios clínicos pivotaes, unos 6 meses antes de su presentación a las Autoridades.

Sin embargo, durante todos los años anteriores, y especialmente durante la fase de desarrollo, ha sido necesario pensar que el objetivo último es obtener la autorización para poder comercializar aclidinio y, por tanto, hubo que tener en cuenta los intereses de las diferentes partes involucradas, así como las necesidades de las áreas de marketing y comerciales, considerando las limitaciones impuestas por normativas vigentes y los requerimientos de las autoridades sanitarias. Por lo tanto, el contenido del dossier de registro refleja el fruto de innumerables estrategias, reuniones con autoridades sanitarias, informes y resúmenes que en conjunto justifican el Beneficio/Riesgo del producto.

Durante el desarrollo de aclidinio se elaboraron informes de todos los estudios realizados por las diferentes disciplinas (químico-farmacéuticos, no-clínicos y clínicos) representando más de 1.200 documentos.

En el momento de empezar a compilar el dossier de registro se elaboraron los denominados “Resúmenes” de todos estos datos. Estos documentos son extremadamente importantes dado que es lo primero que leen los evaluadores de los medicamentos. Estos resúmenes tienen que ser interesantes de lectura y comprensión y deben discutir de una forma relativamente crítica sobre el beneficio y riesgo del producto. Son tan complejos de escribir que con aclidinio llegamos a tener hasta 25 borradores. Estos resúmenes representan en el caso de aclidinio aproximadamente 4000 páginas . de documentación.

Un documento crítico es la Ficha Técnica, que resume en pocas páginas los aspectos más relevantes del producto, y es la base de lo que se podrá comunicar a la comunidad médica. Cada una de las frases en este documento ha sido fruto de innumerables discusiones tanto a nivel del Equipo de Proyecto, como en los Comités ejecutivos de la compañía.

Una vez elaborados los resúmenes y recopilados todos los informes de los estudios realizados pasamos a una fase imprescindible que es la compilación del dossier de registro propiamente dicho. El dossier (denominado en inglés Marketing Authorisation Application para Europa y New Drug Application si es para aprobación en los EE.UU.) está ordenado de la siguiente forma:

Modulo 1: integra la parte administrativo-burocrática, los certificados de inspecciones y muy importante el prospecto, caja, etiquetas y la Ficha Técnica del producto.

Modulo 2: integra los resúmenes de la parte Químico-Farmacéutica, parte No-Clínica (farmacología, metabolismo, toxicología) y la parte Clínica (estudios clínicos realizados con el producto.)

Modulo 3: informe completo de las características químico-farmacéuticas del producto, tanto del Principio Activo como del Producto acabado.

Modulo 4: compilación completa de todos los informes de los estudios no-clínicos (farmacología, toxicología, farmacocinética, metabolismo,....)

Modulo 5: compilación completa de todos los informes de los estudios clínicos (de Fases I, II y III).

En el pasado, la compilación se realizaba en papel y una vez elaborado el dossier de registro se remitía a las Autoridades Sanitarias con transporte terrestre o aéreo ,significando un enorme esfuerzo de fotocopiado y envío (en ocasiones en Almirall habíamos llegado a hacer hasta 5 millones de fotocopias, debidamente ordenadas en volúmenes y cajas). Para aclidinio, toda la documentación ha sido compilada en formato electrónico, de hecho es lo mismo que se hacía en papel pero ahora siguiendo el concepto de navegación electrónica Hemos pasado de realizar un gran esfuerzo en fotocopias a realizar la compilación electrónica del denominado “Electronic Common Technical Dossier” (e-CTD) siguiendo una guía regulatoria que tiene más de 200 páginas, dejando muy poco margen de maniobra y dependiendo de herramientas de software complejas. El trabajo más delicado en esta fase ha sido generar los hipervínculos entre los diferentes documentos que integran el dossier, de manera que en el dossier europeo de aclidinio tenemos unos 11.500 hipervínculos que en el proceso de Control de Calidad tienen que funcionar al 100%.

Esto significa que, una vez completado el ejercicio de recopilar todos los informes, hacer los resúmenes y tener toda la documentación administrativa, que duró unos 5 meses, se necesitó un tiempo adicional al final del proceso, aproximadamente 1 mes, para realizar la ordenación electrónica del e-CTD.

Asimismo, cabe recalcar que no estamos hablando de ordenar dos o tres mil páginas sino de ordenar en el caso de aclidinio un total de 480.000 páginas que en formato electrónico han supuesto unos 4 Gygabites de información.

Una vez hecho todo lo anterior el e-CTD fue remitido vía mensajero en DVDs a la Agencia Europea del Medicamento, a los Rapporteurs (Países Evaluadores) y a todos las Agencias de evaluación de medicamentos que forman parte de la Unión Europea. En este momento empezó el proceso de evaluación del ratio Beneficio/Riesgo del medicamento para su autorización de comercialización. En el caso de los Estados Unidos el e-CTD se remitió a la FDA donde se siguió un proceso de evaluación específico y completamente independiente del de la Unión Europea.

La evaluación de aclidinio por parte de las Autoridades Sanitarias.

La legislación farmacéutica de la Unión Europea es extremadamente compleja y permite escoger entre diferentes procedimientos, sin embargo en la actualidad para las Nuevas Entidades Químicas se utiliza normalmente el denominado Procedimiento Centralizado a través de la EMA, el cual permite obtener una única autorización de comercialización válida para todos los países de la Unión Europea. Al ser una evaluación unificada que representa al final la opinión de toda la Unión Europea el nivel de exigencia es enorme.

En el dominio público se cree que la EMA es el órgano que evalúa los medicamentos, pero en realidad no es así y si me lo permiten voy a recordar brevemente los roles de las diferentes entidades que participan en la evaluación:

La EMA facilita la coordinación de la evaluación del medicamento y proporciona sus instalaciones para las reuniones, sistemas de gestión electrónicos, organiza asesoramiento científico, etc.

El CHMP (Committee for Medicinal Products for Human use) es quien decide si el ratio Beneficio/Riesgo del medicamento es favorable.

El Rapporteur y Co-Rapporteur: son dos expertos de dos agencias sanitarias representando dos países distintos dentro de la Unión Europea, y son sus equipos de evaluación en las agencias los que realmente hacen la evaluación científica del dossier del medicamento. En el caso de aclidinio los países de referencia que actuaron como Rapporteurs fueron el Reino Unido y Polonia.

La Comisión Europea es quien finalmente emite la Autorización de Comercialización que es válida para todos los estados de la Unión Europea.

Almirall al presentar la solicitud de comercialización de aclidinio tuvo que gestionar todas estas entidades distintas.

La aprobación de aclidinio en Europa ha seguido las pautas del procedimiento estándar que se extiende durante aproximadamente un año (incluyendo el “*clock-stop*” del que se comenta después) y se subdivide en las siguientes fases:

Fase de Validación (aproximadamente 15 días): una vez presentado el dossier de registro la EMA comprueba que el dossier electrónico es realmente navegable, que no hay errores en los hipervínculos y que todos los documentos que solicita la legislación están incluidos.

Fase de Evaluación (210 días): esta es la fase más crítica en el desarrollo y registro de un medicamento. El público en general cree que el procedimiento de evaluación es administrativo y nada más lejos de la realidad. Es en esta fase donde los Rapporteurs evalúan la calidad, eficacia y seguridad del medicamento y donde el CHMP da la opinión de si el beneficio terapéutico es favorable.

El primer hito en esta fase se refleja en el día 120 (D120) donde se recibe una lista de preguntas muy extensa y numerosas recomendaciones de cambios en la Ficha Técnica del medicamento. En el caso de aclidinio se recibieron 150 preguntas. En ese momento y dependiendo de la dificultad de las preguntas se dispone del denominado “*clock-stop*” que puede prolongarse entre 1 y 3 meses para preparar el Dossier de Respuestas. Cuando se presenta este Dossier de Respuestas el procedimiento continúa desde el denominado día 121 (D121) hasta el día 210 (D210), donde el CHMP da la opinión final. En el caso de aclidinio Almirall fue capaz de preparar el Dossier de Respuestas en dos meses.

Fase de traducciones y emisión de la Autorización Definitiva de Comercialización (60-90 días aproximadamente): en esta fase se realizan y revisan las traducciones a todas las lenguas de la Unión Europea (actualmente 23 idiomas distintos) de la Ficha Técnica y el material de acondicionamiento (cajas, prospectos, etc.). Asimismo la Comisión Europea evalúa la opinión científica del CHMP sobre el medicamento, el cual pasa por distintos comités para emitir definitivamente el certificado de autorización final.

Es importante destacar que el día más importante es el D210 dado que es el momento donde el CHMP decide sobre la autorización del fármaco. En el caso de aclidinio el D210 fue el 25 de mayo del 2012 y el 20 de Julio se autorizó oficialmente la comercialización.

En el caso de la FDA el procedimiento es distinto, menos burocrático y calendarizado pero no menos dificultoso e intenso. De hecho una particularidad de la FDA es que previa a la autorización se exponen preguntas relacionadas con el ratio Beneficio/Riesgo, eficacia y seguridad a un panel de expertos. En este caso la División de Pneumología de la FDA tiene el denominado PADAC (Pulmonary Allergy Advisory Comité) compuesto por unos 15 miembros. Este comité se reúne

durante un día entero y responde a las preguntas mencionadas en base a una votación. Esta votación es crítica para la consecuente decisión de la FDA en cuanto a la autorización del fármaco. Estos comités son absolutamente públicos e incluso se pueden seguir por internet en el portal de la FDA. En el caso de aclidinio esta reunión tuvo lugar en 23 de Febrero del 2012 con una votación favorable a la aprobación de aclidinium de 12 a 2. El 23 de julio se recibió la autorización.

Al disponer del Certificado de Autorización para aclidinio acabó un largo trayecto de esfuerzo de muchísimas personas y también de la compañía por las inversiones realizadas.

Es importante comentar que la fase del registro de aclidinio no acabó con la Unión Europea y los EEUU, ahora está continuando en el resto del mundo.

INTERNACIONALIZACIÓN DE LOS RESULTADOS

Patentes y publicaciones

Almirall protege los resultados de su investigación mediante los instrumentos habituales de propiedad industrial e intelectual, en particular patentes y marcas, que solicita internacionalmente en mas de 70 países.

El aclidinio está protegido por diez familias de patentes y solicitudes de patentes que reivindican aspectos específicos del fármaco, como su estructura química, su formulación galénica, sus indicaciones clínicas o sus combinaciones con otros fármacos. A su vez, el dispositivo inhalador Genuair® está protegido por tres familias de patentes.

Almirall ha licenciado las patentes y marcas que protegen al aclidinio inhalado a varios *partners* internacionales que colaboran en el desarrollo y comercialización del producto en todo el mundo.

CONTRIBUCIÓN DE ALMIRALL EN LA INVESTIGACIÓN DE NUEVOS MEDICAMENTOS

Para finalizar, en Almirall decimos que nuestra mejor tarjeta de presentación son los resultados obtenidos en I+D. Si bien en este discurso de ingreso a la Real Academia Nacional de Farmacia he hecho énfasis en el aclidinio como nuestra última aportación al arsenal terapéutico, los resultados del constante esfuerzo e inversión en el descubrimiento de fármacos innovadores y de valor añadido, quedan avalados por la historia . Almirall es el laboratorio español que más ha contribuido a los resultados de la I+D española con los siguientes 8 productos fruto de la I+D propia; cleboprida, almagato, piketoprofeno, , cinitaprida, aceclofenaco , ebastina , almotriptán y aclidinio.

Actualmente, más del 45% de las ventas de Amirall proceden de productos generados a partir de la investigación que realiza.

Es el laboratorio farmacéutico español que más recursos dedica a I+D y tal como les he comentado la compañía invierte más del 20% de las ventas netas y de la plantilla a actividades de I+D.

En 2012, la inversión en I+D supuso un gasto de 160 millones de Euros, una de las cifras más altas del sector y un claro ejemplo del compromiso de la compañía con el avance de la medicina, la innovación y la tecnología, especialmente en los tiempos actuales en los que la compañía ha mantenido la inversión en I+D.

Así pues, en la actualidad Amirall es una de las empresas españolas que más aporta al conjunto de la I+D de toda España, representando más de un 3% de la toda la I+D de la industria en nuestro país. Ello posiciona a la compañía como la primera farmacéutica española en inversión en I+D y entre las 20 farmacéuticas europeas según el ranking europeo, *EU Industrial R&D Investment Scoreboard*, realizado por la Comisión Europea que realiza un estudio de las 1.000 compañías que más invierten en investigación y desarrollo.

CONCLUSIONES

La responsabilidad social de la industria farmacéutica es una realidad permanente, donde el compromiso con la investigación de nuevos medicamentos, el respecto con el entorno y la actitud hacia la sociedad (principalmente pacientes) convergen en un compromiso global irrenunciable, que constituye la razón principal del sector; la salud y la vida.

La industria farmacéutica ha desarrollado tratamientos para la mayoría de las principales enfermedades. Sin embargo, continúa siendo muy necesaria la investigación en medicamentos novedosos. Los crecientes problemas de resistencia a los medicamentos disponibles, la falta de medicamentos preventivos y curativos para algunas de las principales enfermedades, tales como el asma o la EPOC, señala la necesidad de realizar continuos esfuerzos en I+D, no sólo para mejorar el espectro actual de las terapias y tratamientos ,sino también para crear nuevos medicamentos que puedan abordar las necesidades siempre crecientes de la salud.

La compañía farmacéutica Amirall tiene asumido su compromiso con la sociedad y es por lo que dedica grandes esfuerzos a la I+D de nuevos medicamentos , siendo la empresa española que mas moléculas de investigación propia tiene, tanto en el mercado nacional como en el internacional.

Aclidinio es una nueva molécula diseñada, investigada y desarrollada por, Almirall, para el tratamiento de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Aclidinio es un compuesto de acción prolongada, perteneciente a una familia de moléculas conocidas como “antagonistas de larga duración de los receptores muscarínicos” (LAMA), que se administra dos veces al día a través de un novedoso inhalador de polvo seco, desarrollado también por Almirall llamado (Genuair®).

Los estudios preclínicos han demostrado que acclidinio es un antagonista potente y competitivo de los receptores M₃ sobre los de tipo M₂. Aclidinio tiene una larga residencia en los receptores M₃ y los resultados de los estudios preclínicos y clínicos primarios en sujetos sanos indican que el acclidinio proporciona una protección duradera contra la broncoconstricción. Esto ha sido confirmado durante todo el completo desarrollo clínico con pacientes de EPOC moderada a grave, demostrando que produce broncodilatación sostenida a lo largo del tratamiento, así como una importante mejora en la calidad de vida de los pacientes. En el plasma humano, el acclidinio se hidroliza rápidamente en dos metabolitos inactivos principales. La exposición sistémica de acclidinio es muy baja y transitoria, hecho muy consistente con un excelente perfil de tolerabilidad-

El 20 de Julio del 2012 la Comisión Europea autorizó oficialmente la comercialización de acclidinio en Europa con las marcas Eklira y Bretaris y el 23 de Julio hizo lo mismo la FDA para los EEUU , con la marca Tudorza.

La autorización de acclidinio en Europa representa la primera Nueva Entidad Química de origen español autorizada por la vía centralizada y en Estados Unidos representa la segunda NCE autorizada por un laboratorio español (la primera fue almotriptan un producto para la migraña también descubierto y desarrollado por Almirall).

A pesar del compromiso asumido por la industria farmacéutica para continuar con los esfuerzos en I+D, lo cierto es que en nuestro país la inversión en este terreno se está desacelerando. Según datos de la encuesta anual de Farmaindustria, en el último año ha disminuido la aportación de recursos económicos destinados a la I+D y ello es debido principalmente a las repercusiones económicas derivadas del copago, las rebajas de precios, la aplicación del nuevo sistema de precios de referencia y a la política de genéricos. Además estas medidas debilitan la confianza en España, como centro de producción en I+D farmacéutica provocando la pérdida de atractivo como país receptor de inversiones estratégicas. Otros aspectos como la intervención de precio (recordemos que España es uno de los países con los precios más bajos de Europa), las exportaciones paralelas, la falta de incentivos a la I+D o el difícil reconocimiento de la propiedad intelectual y de la marca también son factores que representan un problema añadido para las empresas que quieren crecer internacionalmente.

Dada la importancia de la I+D como motor económico e indicador del nivel de desarrollo nacional, el Estado no puede permitirse el lujo de desincentivar la inversión dedicada a esta actividad, en la que el sector farmacéutico tiene un peso importante. Es por ello que el sector necesita de un marco socio-económico estable y predecible que favorezca y reconozca la I+D, por lo que tanto la Administración como la industria farmacéutica están obligadas a entenderse y encontrar el equilibrio entre los intereses de ambas partes, a través de una política de precios alineada con la europea y garantizando una protección de la innovación que permita un retorno de los esfuerzos e inversiones realizadas y elimine el diferencial que separa a España respecto de Europa.

Para terminar ,quisiera agradecer una vez a más el que esta Real Academia Nacional de Farmacia me haya brindado la oportunidad de leer el discurso de ingreso como Académico Correspondiente “presentando en sociedad” a la nueva molécula de la I+D de Almirall, aclidinio, como prueba del esfuerzo, ilusión y nivel de innovación con el que la industria farmacéutica y en este caso Almirall está comprometida con la sociedad.

Creo que las aportaciones científicas del Departamento de Investigación de Almirall, constituye posiblemente la llave para la supervivencia del laboratorio, que quiere contribuir con su aportación, a una mejora en la calidad de vida de la humanidad.

Muchas Gracias



PUBLICACIONES ELECTRÓNICAS DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA