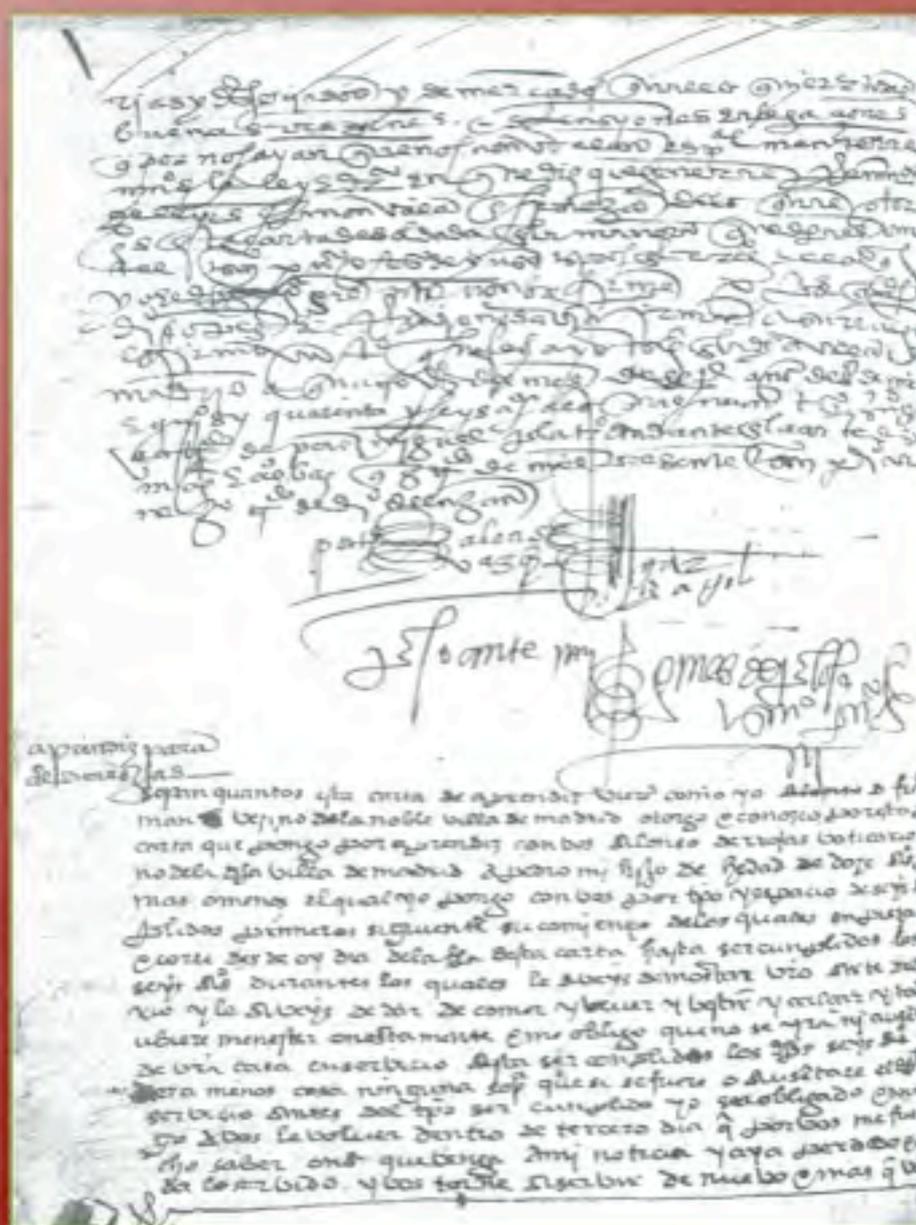


ANALES DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

Volumen 82 | Número 3 | Julio-Septiembre 2016 | Páginas 261-358



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



Fundamental deficiencies in current political discourse

Title in Spanish: *Ausencias fundamentales en el discurso político actual*

Ana M.^a Pascual-Leone Pascual¹

¹Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid

***Corresponding Author:** anamariapascualleone@gmail.com *An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 264-266*

Received: October 24, 2016 **Accepted:** October 28, 2016

Language of Manuscript: Spanish

En la última mitad del año 2015, abundaron las publicaciones científicas especializadas y los artículos de periódico hablando de lo mismo. Se trataba de exponer a la sociedad civil el deterioro que la crisis económica había causado en diferentes vertientes de nuestra sociedad y, concretamente, en una muy importante para España, como es el binomio Educación-Investigación (1,2,3,4). El número de opiniones expresadas y publicaciones fue grande.

El binomio Educación-Investigación, que va siempre unido en todos los países, es deficiente en España, muy deficiente. Somos la quinta potencia económica europea, pero ocupamos el número diecisiete en cuanto a investigación (2). Es casi cómico que llevemos hablando de ello en todas las Instituciones Culturales del país (1,2), pidiendo, desde hace años, pactos por la Ciencia presentados por los Investigadores de este país. En la revista trimestral SEBBM de marzo de 2004 ya se pedía un Pacto por la Ciencia al futuro Presidente del Gobierno que saliera de las urnas el 14 de marzo. Y, finalmente, recientemente, el Instituto de España, que engloba a todas las Reales Academias, pidió al Gobierno la petición de un Pacto por la Educación.

La mejora de créditos estatales para educación-investigación que tuvo lugar en los años 2008 y 2009, propició buenas laboratorios, con infraestructuras a la altura del siglo XXI y nos hizo conseguir, debido al aumento de becas y subvenciones, la juventud mejor preparada que nunca hemos tenido. El Gobierno, en 2011, lanzó el Programa Severo Ochoa con el objetivo de proteger e impulsar a los centros de investigación españoles que fueran evaluados, a nivel mundial, de primera línea en sus respectivos campos. No más de aproximadamente cuarenta centros hasta 2015 fueron nominados "Centros Severo Ochoa". Se prometía subvencionarlos con generosa financiación. Lo cual, por una parte, muestra nuestra capacidad investigadora actual y, por otra, la necesidad de ampliar las dotaciones para que centros de ese nivel se multipliquen. Muy bien primar la excelencia, pero ello no soluciona el problema educativo e investigador que venimos arrastrando en nuestro país.

En otras vertientes, hay que señalar, en primer lugar, que este país tiene una Sanidad como muchos otros países no tienen, por ello la existencia del llamado "turismo sanitario". Es decir, personas de países con un nivel educativo más alto que el nuestro, llámese Reino Unido, o bien otros países europeos, que vienen a utilizar nuestros servicios de salud, sin embargo, en momentos de crisis, se ha olvidado, también, el proteger nuestra Sanidad y defenderla a ultranza de cualquier crisis económica.

También existen problemas y preocupaciones acerca de las futuras pensiones e incluso de las presentes, pero no se protege la natalidad de forma conveniente en una sociedad española completamente envejecida.

Nuestros políticos hablan continuamente del I+D+i como ampliación de nuestra economía futura, pero ¿la política científica es suficientemente protegida, implantada y valorada en el país?, ¿alcanza prioridad en las tareas de gobierno?

Hemos estado desde el 20 de diciembre en campaña electoral. ¿Se han ocupado suficientemente de todos esos problemas básicos en los discursos políticos? ¿Qué nos pasa?

Todos los problemas citados, que son muy importantes para la sociedad española y que deberían ser tratados en profundidad, presentando ofertas y prioridades, han sido expuestos pobremente y de puntillas en las diferentes vertientes políticas, en la larga etapa electoral que hemos llevado desde el 20 de diciembre último.

Por ello, han abundado las publicaciones al respecto en medios especializados o en la prensa diaria.

En el último número de la Revista Española de la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular SEBBM, Septiembre 2016 n° 189, el Dr. D. Miguel Ángel de la Rosa, Catedrático de Bioquímica de la Universidad de Sevilla y Editor de la Revista, publica un artículo titulado "Ciencia, la gran Ausente" queriendo resaltar el escaso relieve y frecuencia con que han sido tratados los asuntos educativos e investigadores en el marco político reciente. Y termina diciendo *la ciencia como motor económico resulta voz común entre los políticos, mas difícilmente se traduce en apuestas decididas y acciones reales de futuro.*

En *EL País* del 17 de septiembre de 2016, se publicó un artículo de opinión titulado “Invertir en Educación”. En él se comienza diciendo que tanto la crisis económica como la parálisis institucional van a pasar factura a los españoles con consecuencias a largo plazo. Cita la advertencia de la OCDE a España -*Panorama de la educación 2016*-, por el deterioro de la inversión en educación, advirtiendo que *una educación de calidad necesita una financiación sostenible*. También se comenta que la mayoría de países desarrollados mantuvieron los niveles de inversión educativa durante la crisis, algunos a pesar de ser tan golpeados como España, caso de Italia o Portugal. Afirma cómo el sistema educativo español adolece de carencias estructurales y organizativas que afectan a su calidad, pero dice que por muy acertadas que sean las medidas, el éxito de cualquier reforma dependerá, en primer lugar, de una financiación adecuada y mantenida. Cita que la financiación en educación ha bajado con relación al PIB, pasando del 5% en 2013 al 3.89 % en 2016. Por último, recientemente, en *El País* del 25 de septiembre de este año, el Dr. Sánchez Ron, Premio Nacional de Ensayo 2015 y Académico de la Real Academia Española además de Catedrático de Historia de la Ciencia en la Universidad Autónoma de Madrid, escribe un artículo de opinión titulado *El ejemplo de Obama*, donde relata cómo en 2009, el primer discurso de Obama después de su elección como Presidente, tuvo lugar en la *National Academy of Sciences*. Remarca ya el Dr. Sánchez Ron, que eligiera ese lugar pero, además, transcribe párrafos de su discurso donde reconocía los hondos problemas de índole social y político a los que el mundo se enfrentaba y decía textualmente: *hay quienes dicen que no podemos permitirnos invertir en ciencia, que apoyar la investigación es un lujo en momentos definidos por la necesidad. Estoy totalmente en desacuerdo. La ciencia es esencial para nuestra prosperidad, nuestra seguridad, nuestra salud, nuestro medio ambiente y nuestra calidad de vida, más de lo que ha sido en cualquier tiempo pasado*. Y en 2013 el Presidente Obama puso en marcha un proyecto para establecer un mapa de la actividad cerebral (Brain Activity Map Project) sin olvidar señalar en su presentación los beneficios económicos y, sobre todo, las posibilidades terapéuticas para el Alzheimer o el Parkinson.

Estamos hablando del Presidente de la mayor potencia económica mundial y se pregunta el Dr. Sánchez Ron, *¿dónde están las alusiones y los proyectos con respecto a la ciencia de nuestros políticos españoles en este lapso enorme de etapa electoral?*

Los científicos españoles, en sus peticiones y llamadas de atención a políticos (2), han acuñado la frase *los países ricos no investigan porque son ricos sino que son ricos porque investigan*, frase que podría ratificar la actuación del Presidente Obama.

Nuestros políticos sí que han hablado recientemente de la necesidad de leyes para erradicar la corrupción en todas las vertientes políticas que se van descubriendo. Y, por supuesto, que hay que atajar donde sea y como sea el

despilfarro de dinero público por estas cuestiones, sin mencionar la vertiente de falta de ética que ello muestra. Pero en el siglo XXI no se puede hablar simplemente de creación de puestos de trabajo, como se viene haciendo, porque no es suficiente que la gente no se muera de hambre, no se puede hablar simplemente de necesidades básicas, la necesidad de la educación se impone y más en un régimen democrático como es el nuestro. Hay que elevar el nivel educativo y hay que evitar la fuga de los mejores jóvenes preparados a países donde se les valora y se les respeta. Hay que hablar de educación, de selección de capacidades creativas, de mejora de la enseñanza. Y hay que hacerlo contando con las Instituciones Culturales y su experiencia y con los jóvenes mejor preparados y más creativos que tengamos. Y hacerlo, además, en este mundo globalizado en el que ya estamos, consultando y contando con los países más cultos. Hay, como nunca, que favorecer la colaboración internacional e intergeneracional. Todo ello es lo que se han planteado, después de la crisis económica, países europeos cuando han venido creando Academias Jóvenes Nacionales (5,6). Academias Jóvenes, todas ellas creadas en el siglo XXI, y esperamos que tras el nuevo Gobierno podamos en España tener, lo antes posible, la nuestra.

Estas Academias Jóvenes han sido creadas en todos los continentes y en países europeos con democracias mucho más consolidada y maduras que la nuestra. La democracia y la cultura siempre han ido unidas en la humanidad, desde el principio de su establecimiento, recuérdese el llamado Siglo de Pericles en la antigua Grecia.

La Presidente de Alemania Angela Merkel fue capaz de reconocer recientemente sus errores de planteamiento en la acogida de emigrantes que hizo su país, sin dejar de seguir abogando, igualmente, por la necesidad de la acogida –*El País* 20 de septiembre 2016- Ello es toda una muestra de madurez política que necesitamos alcanzar en nuestra democracia. Y Alemania, en el año 2000, fue donde se creó la primera Academia Joven.

El garante de nuestra democracia debe ser, desde luego, el “juego limpio” la falta de corrupción en todas las vertientes de nuestra sociedad, por ello nos debemos felicitar por la firma el 2 de diciembre de 2015 de la “Declaración Nacional sobre Integridad Científica” firmada por COSCE –Confederación de Sociedades Científicas de España- CRUE –Universidades Españolas y CSIC-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Revista SEBBM, diciembre 2015, nº186).

Nos cabe la satisfacción a los Académicos de este país de que el Presidente del Estado Español y de las Reales Academias, el Rey Felipe VI, sí que haya lanzado, durante este largo tiempo electoral, llamadas de atención sobre la protección de la cultura y la educación en este país y, también, en su primer discurso como Presidente de las Academias aconsejó la necesidad del intercambio cultural entre académicos y jóvenes creadores científicos, es decir, aconsejaba el intercambio generacional en la Cultura.

Por último, un ruego al nuevo Gobierno: demos voz y protección a la Ciencia y la Cultura creando un Ministerio

que se podría llamar, como en Alemania, “Ministerio de Educación e Investigación” o “Ministerio de Educación y Ciencia “, como ya se llamó, y procuremos una ampliación de créditos sostenible e intocable para este Ministerio.

BIBLIOGRAFIA

1. Revista trimestral SEBBM nº 185, Septiembre 2015 “ El proyecto político para la ciencia”.
2. Pascual-Leone AM.”Pay attention: Do we really need an economical model based on knowledge ? (*Llamada de atención: ¿queremos verdaderamente un modelo económico basado en el aporte de conocimiento?* An. Real Acad Farm 2015; 81, 3: 224-9.
3. Pascual-Leone AM. Investigación-Educación y viceversa: la gran asignatura pendiente. Panacea 2015; 4: 30-41. Web: www.revistapanacea.com.
4. Muñoz Molina A. Tierra Quemada. El País, 24 octubre 2015.
5. Mesa Redonda - 9 junio 2016-: Sesión sobre política científica actual, centrada en la creación de una Academia Joven Nacional. Titulada :”” *Educación-Investigación para el futuro : la Academia Joven de España*” Presidida por el Excmo.Sr. Presidente de la RANF. D. Mariano Esteban y con la asistencia de la Excmá Sra. Secretaria de Estado del Ministerio de Investigación, Desarrollo e Innovación Sra Dña., Carmen Vela. Coordinada por A.M.Pascual-Leone, Académica de Número de la RANF. PRESENTACION: Ana M. Pascual-Leone Pascual. PONENTES: -Excmo Sr. D. David Rios Insua, Académico de Número de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales -Prof. Dr. D. Javier Martínez Moguerza, Prof. Titular de Estadística e Investigación Operativa Universidad Rey Juan Carlos -Prof. Dr. D. Juan Antonio Gabaldón Estevan, Investigador de la Institución Catalana de Investigación y Estudios Avanzados (ICREA (An Real Acad Farm 2016; 82, 3: 338-351). <http://www.ranf.tv/index.php/video/414/mesa-redonda-educaci%C3%B3n-investigaci%C3%B3n-para-el-futuro-la-academia-joven-de-espa%C3%B1a>
6. Pascual-Leone AM. Academia Nacional Joven ¿vamos a dejar pasar el tren para España? An Real Acad Farm 2014; 80, 1: 4-8.



British pharmaceutical companies and the development of the life sciences after the Brexit

Title in Spanish: *Las compañías farmacéuticas británicas y el desarrollo de las ciencias de la vida tras el Brexit*

Carmen Avendaño^{1,*}

¹Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid.

*Corresponding Author: avendano@farm.ucm.es

Received: July 28, 2016 Accepted: September 29, 2016

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 267-269

Language of Manuscript: Spanish

En el resultado del referéndum celebrado en el Reino Unido el 23 de junio de 2016 sobre su permanencia o salida de la Unión Europea, un asunto controvertido desde su integración en 1973, influyeron distintos argumentos que afectaban a la soberanía británica. Según la hipótesis ganadora, una de las ventajas de la salida (denominada Brexit), sería lograr una mejor posición británica para negociar acuerdos comerciales y una liberación de la regulación y burocracia comunitaria. Este argumento no se percibe, al menos de momento, en lo que se refiere al progreso y desarrollo de las ciencias de la vida y el futuro de las compañías farmacéuticas británicas, cuyo impacto merece la pena comentar (1).

La industria del medicamento británica se había posicionado mayoritariamente contra el Brexit. Sin embargo, una vez confirmado el divorcio con Europa, la Asociación de la Industria Farmacéutica Británica (ABPI) ha emitido un comunicado en el que asume el resultado del referéndum aunque avisa acerca de los retos inmediatos para la investigación, el empleo y el desarrollo en este sector. La decisión de abandonar la UE ha supuesto para las compañías farmacéuticas más pequeñas el tener que enfrentarse a un futuro incierto ya que afecta a la investigación, producción, distribución y venta de fármacos y otros productos farmacéuticos. Según los expertos, disminuirá la influencia y la reputación de Gran Bretaña como un centro mundial de investigación y aprendizaje y las pocas compañías que no perderán con el Brexit, sino que se podrán expandir, son las que trabajen en áreas restringidas por las leyes vigentes en la UE, como es el caso del desarrollo de semillas modificadas genéticamente.

Las industrias conectadas a las ciencias de la vida son el tercer sector industrial más importante del Reino Unido, con 4.000 compañías y 160.000 empleados. Estas cifras no incluyen la investigación académica, en la que frecuentemente se desarrollan ideas que finalmente se traducen en fármacos innovadores. En este aspecto, es

particularmente relevante la región inglesa llamada Silicon Fen (o Cambridge Cluster), en donde existe uno de los más importantes centros tecnológicos de Europa, con gran concentración de negocios conectados muchas veces con la Universidad de Cambridge, enfocados al software, la electrónica y la biotecnología.

Es lógico que el Reino Unido se quede fuera de todos los proyectos europeos en materia de investigación y desarrollo, lo que producirá un daño importante. Tal y como señalan académicos de la Universidad de Cambridge, este país es el segundo mayor beneficiario de fondos de la UE para la investigación después de Alemania, y será necesario que el Gobierno británico sea capaz de compensar ese agujero. Durante su permanencia en la UE, la financiación de la ciencia ha sido una de las áreas en las que el Reino Unido ha sido un claro beneficiario. Según la Royal Society, entre 2007 y 2013 el país contribuyó al presupuesto para Investigación y Desarrollo de la UE con 5,4 billones de € y recibió 8,8. Por tanto existe un déficit anual de cerca de 1 billón de € cuyo aportación por parte del gobierno no está asegurada.

El mayor programa para la Investigación e Innovación de la UE para llevar al mercado las grandes ideas, hacerse más competitiva, y estimular la creación de empleo, es actualmente el programa Horizon 2020, con casi 80 billones de € para invertir en 7 años (de 2014 a 2020). Con estas aportaciones se espera además atraer capital privado. En los últimos años, gracias a incubadoras especializadas en la creación y desarrollo de negocios basados en las ciencias de la vida proporcionando casas, equipamiento, servicios comunes, formación y soporte para la gestión, se han creado en el Reino Unido unas 200 compañías. Varias se ha situado en la llamada *BioCity* de Nottingham y muchas sobreviven gracias al Programa Horizon 2020. Es más que posible que muchos científicos de valía, especialmente los no británicos, prefieran trasladarse a otros países dentro de la UE si llegan los malos tiempos. El Reino Unido es también el principal destino de la UE para

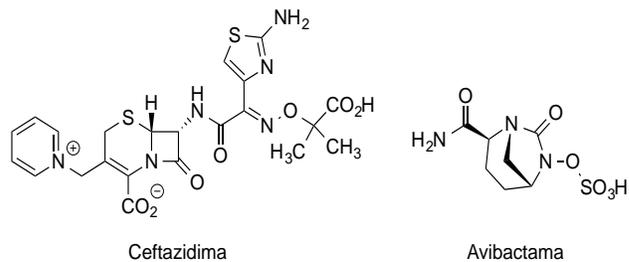
los fondos de capital de riesgo. Según la Asociación *BioIndustry* de Reino Unido (BIA), entre 2005 y 2015, el sector de la biotecnología superó los 924 millones de libras de ofertas públicas iniciales y los 2.400 millones de dólares de capital riesgo.

Respecto a las compañías farmacéuticas, parece que el Brexit podría hacer más difícil el *Pharmaceutical Price Regulation Scheme* (PPRS), que es el mecanismo utilizado por el Departamento de Salud para asegurar que el *National Health System* (NHS) tiene acceso a medicamentos de calidad a precios razonables para las dos partes implicadas. Hasta ahora, este sistema implica acuerdos entre el Departamento de Salud del Reino Unido y la *Association of British Pharmaceutical Industry* (ABPI).

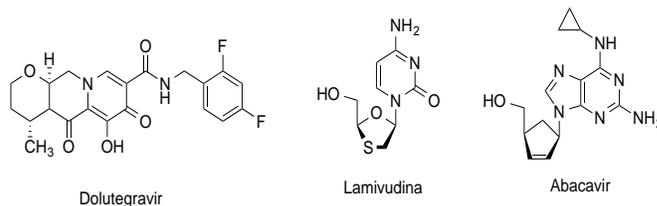
La relocalización de compañías farmacéuticas multinacionales que actualmente tienen su base en el Reino Unido es otra de las incógnitas. Aunque parece una cuestión menor, las compañías farmacéuticas establecidas en Gran Bretaña se acogen a la aprobación de los nuevos tratamientos por parte de la *European Medicines Agency* (EMA), que precisamente se encuentra en Londres. Este sistema es vital para su actividad industrial, ya que sin dicha aprobación no es posible la venta de medicamentos en la UE. Cuando este sistema no sea aplicable, el Reino Unido tendrá que negociar un nuevo sistema y es más que probable que la EMA y la próxima *European Unified Patent Court*, focalizada en las ciencias de la vida, se situarán en otro país (¿quizás Italia, el país del Profesor Guido Rasi actual Director Ejecutivo de la EMA?). El Reino Unido podría perder también gran parte de su influencia en los debates sanitarios europeos, donde organizaciones como el *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) han jugado hasta ahora un papel bastante destacado. La relocalización de compañías farmacéuticas pudiera también verse impulsada por las dificultades en el desarrollo de ensayos clínicos debido a que el acceso de alguno de los últimos productos para realizarlos no está garantizado de forma rutinaria y porque estos ensayos tendrían su propia regulación (2).

Glaxo Smith Kline (GSK) y AstraZeneca, dos de las mayores compañías farmacéuticas británicas, han confirmado que, aunque el triunfo del Brexit hará estragos en esta industria, mantendrán sus bases en el Reino Unido. Al daño producido por la caída de la libra respecto al dólar, debido a que tienen un gran negocio en América, se unen otras circunstancias que pueden aumentarlo o paliarlo. Astra tiene buenas perspectivas por los buenos resultados obtenidos en el tratamiento del asma grave con el anticuerpo monoclonal anti-eosinófilo benralizumab. La reciente aprobación de la combinación ceftazidima-avibactama (Zavicefta[®]), una cefalosporina de tercera generación y un inhibidor de β -lactamasas no β -lactámico, para el tratamiento de infecciones graves causadas por bacterias Gram-negativas ha sido otra excelente noticia. Sin embargo, la empresa se ve incapaz por el momento de compensar la bajada en las ventas de sus dos fármacos estrella: el inhibidor de la enzima HMG-CoA reductasa

rosuvastatina (Crestor[®]), utilizado como anticolésterolémico, y el inhibidor de la ATPasa H^+/K^+ esomeprazol (Nexium[®]), utilizado como antiácido.



Por su parte, Glaxo Smith Kline ha tenido muy buenos resultados económicos en la primera mitad del año 2016, en parte debidos a la inclusión de nuevos productos para el tratamiento anti VIH de primera línea: el inhibidor de la integrasa dolutegravir, que se utiliza sólo (Tivicay[®]) o en combinación con los nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa lamivudina y abacavir (Trumeq[®]).



Otros productos nuevos de SKS, como la combinación del agonista de los receptores adrenérgicos β_2 vilanterol con el corticoide fluticasona (Relvar Ellipta[®]) o con el antagonista del receptor muscarínico umeclidinio (Anoro[®]) y el anticuerpo monoclonal mepolizumab (Nucala[®]), son útiles en el tratamiento del asma. Las vacunas antimeningíticas Menveo[®] y Bexsero[®] también han colaborado a estos resultados económicos.

Quizás el interrogante más importante para la industria farmacéutica que se plantea de cara a las obligadas negociaciones con la UE es determinar si permanecerá el Reino Unido en el Espacio Económico Europeo (EEE), porque si la respuesta es positiva, las incertidumbres que existen sobre el sistema de aprobación de medicamentos dejan de tener sentido ya que las aprobaciones centralizadas también se aplican a los países que están dentro del EEE. Sin embargo, esta situación no resolvería las dudas relativas a las inspecciones, el desarrollo de ensayos clínicos y los trabajos que el Reino Unido desarrolla con el resto de los estados en torno a los proyectos de acceso acelerado a medicamentos y otros. Dado que la UE se encuentra ahora en negociaciones con Estados Unidos para armonizar esta serie de trámites e incluirlos en el Tratado de Comercio e Inversión (TTIP), el Reino Unido quedaría automáticamente fuera de estas negociaciones y, por tanto, de dicha armonización. Las inspecciones realizadas por la *Medicines & Healthcare products Regulatory Agency* (MHRA), ya no serían válidas por el resto de estados miembro de la UE, lo que podría suponer inspecciones adicionales por parte de la UE en las

instalaciones de la industria farmacéutica afincada en Reino Unido.

Las exportaciones son seguramente la principal preocupación para el tejido empresarial. La Unión Europea representa el 56 % de las exportaciones farmacéuticas de este país, lo que se traduce en unos 53.000 millones de libras anuales. De hecho, podría entrar en la categoría de “tercer país” a la hora de exportar e importar, como es en este momento Estados Unidos. De este modo, los medicamentos fabricados en Reino Unido podrían tener que ser importados a la UE con unas pruebas de importación auxiliares y más controles de calidad y seguridad.

Para terminar, nos parece relevante la opinión de Steve Brozak, que es Presidente de la compañía de asesoramiento de inversiones *WBB Securities* focalizada en la salud, la biotecnología, y la investigación farmacéutica y médica:

“Brexit Will Be Bad For Pharma. Pharmaceutical and medical device companies aren’t just service providers. They are among the largest industries in the world. They require stability. And suddenly, they don’t have it”.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ver, por ejemplo, el artículo de *The Sunday Times* “How to make our scientists very mad” del 24/07/2016.
2. Faus & Moliner Abogados. “Brexit and medicinal products”, *CAPSULAS Boletín de información jurídica*, June 2016, Number 172.



Study of the effect of large volumes of chitosan on different murine organs, to be administered daily for two weeks

Title in Spanish: *Estudio del efecto de grandes volúmenes de nanopartículas de quitosano sobre diferentes órganos murinos, al ser administradas diariamente durante dos semanas*

Verónica Castro Bear², Enrique R. Ángeles Anguiano³, Sandra Díaz-Barriga Arceo⁴, Óscar Zúñiga Lemus^{1,*}

¹Instituto de Farmacobiología, Universidad de la Cañada, Oaxaca, Teotitlán de Flores Magón, México. ²Universidad Leonardo da Vinci, Tehuacán, Puebla. ³Laboratorio de Química Medicinal, Departamento de Ciencias Químicas FESC, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Izcalli, México. ⁴Laboratorio de Toxicología y Genética, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Campo 4, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, México.

ABSTRACT: Aim: Chitosan nanoparticles have been used on different pharmaceutical formulations, however there is not data important that show if these structures are toxic. In this work we studied the acute toxicity of chitosan nanoparticles. Methods: We used mice BALB/c, the chitosan nanoparticles was administrated intraperitoneal via by 15 day after these, the mice was sacrifice by cervical dislocation and the organs were treated for histological analysis using HE stain. Results: The histological results showed that chitosan nanoparticles causes damage on heart, liver, spleen, intestine and kidney in mouse BALB/c male. Conclusion: The exposure at chitosan nanoparticles causes histological damage on heart, liver, spleen, intestine and kidney.

RESUMEN: Objetivo. Las nanopartículas de quitosano han sido usadas recientemente en diversas formulaciones farmacéuticas, este trabajo evaluó la toxicidad que pueden presentar estas estructuras. Material y Métodos. Se utilizaron ratones de la cepa BALB/c administrados durante 15 días con nanopartículas de manera intraperitoneal posterior a lo cual se sacrificaron, obtuvieron diversos órganos y trataron para su análisis. Resultados: Los resultados muestran que las nanopartículas de quitosano presentan toxicidad en ratones machos, ya que pueden dañar corazón, intestino, riñón, bazo e hígado. Conclusión: La exposición a nanopartículas de quitosano causó daño histológico sobre corazón, hígado, bazo, intestinos y riñón.

*Corresponding Author: oszulemus@hotmail.com

Received: July 7, 2016 Accepted: September 27, 2016

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 270-273

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

El empleo de sistemas de transporte de fármacos con liberación controlada con alta especificidad y actividad en el lugar de aplicación, sin efectos tóxicos, es un modelo ideal que se investiga con el uso de nanopartículas (1). Los liposomas, dendrímeros, microcápsulas, etc., son algunas de las nanopartículas que se han utilizado en el transporte de fármacos, porque pueden imitar o modificar procesos biológicos que ayudan a solucionar problemas de solubilidad, biodisponibilidad, inmunocompatibilidad y citotoxicidad de algunos medicamentos (2). Se ha propuesto que las preparaciones de nanopartículas a base de polímeros naturales presentan mayor biodegradabilidad y, en consecuencia, menor toxicidad (3). Entre los diversos polímeros naturales biodegradables disponibles se encuentra el quitosano (2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucosa y 2-amino-2-deoxy- β -D-glucosa) (4), el cual sirve como una matriz de administración de fármacos debido a su naturaleza química y la permeabilidad en sistemas *in vivo*

e *in vitro* (5).

Las nanopartículas han sido ampliamente utilizadas como transporte de moléculas pequeñas, péptidos (6), vacunas (7) y genes (8), a través de las mucosas (9), por vía tópica (10), parenteral (11), entre otros usos. No obstante, aunque el quitosano se considera generalmente no tóxico, hay reportes que indican que la perfusión con 250 mg/mL de una solución de nanopartículas causa cambios morfológicos en las microvellosidades intestinales de ratas, incrementando la secreción de mucina en las células caliciformes (12). Aun cuando la utilización de quitosano como sistema de transporte de fármacos de liberación controlada representa una alternativa con futuro en la industria farmacéutica, la investigación realizada en relación a sus posibles efectos tóxicos ha sido poca e insuficiente, y se desconocen la mayor parte de sus posibles efectos adversos.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar si las nanopartículas de quitosano presentan un

efecto toxicológico al exponer ratones de la cepa BALB/c a estas estructuras, basándonos es un análisis histológico de órganos como son: corazón, hígado, bazo, riñones e intestinos delgado (ID) y grueso (IG).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Preparación de nanopartículas

Las nanopartículas se prepararon disolviendo el quitosano en ácido acético al 1 %, una vez preparadas se mezclaron con tripolifosfato (TPP) en concentración 0.3 % hasta alcanzar una proporción 3:1 (TTP:quitosano), para tener una concentración final de 0.15 % de TTP y 0.05 % de quitosano. A esta solución se le ajustó el pH hasta 5.2 con PBS 1X pH 7.4. Dejando en agitación constante durante 1 hora a temperatura ambiente, antes de su uso, las nanopartículas se esterilizaron por filtración con un poro de 0.22 μ M. Para la caracterización de estas estructuras se usó microscopía electrónica de transmisión (JEM 2010), con la finalidad de obtener una imagen definida de las mismas.

2.2. Exposición de las nanopartículas

Se utilizaron ratones machos de la raza BALB/c con una edad de 5 semanas, los cuales fueron alimentados con agua y alimento *ad libitum* manteniendo una temperatura y humedad contralada con exposición de 12 por 12 horas de luz.

A los animales se les administró las nanopartículas de quitosano un volumen de 1mL/día por vía intraperitoneal durante un lapso de 14 días. Como control de experimentación se usó la solución de ácido acético sin nanopartículas a pH de 5.2 esterilizada por filtración.

2.3. Análisis histológico

Después de transcurrido el tiempo de exposición, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, se extrajeron corazón, hígado, bazo, riñones, intestino delgado y grueso. Los órganos obtenidos se fijaron en

formaldehído buferado al 4 %, posteriormente se deshidrataron en un gradiente de etanol hasta alcanzar el 100 %, el cual fue substituido por Xilol para embeber en parafina y su posterior corte al micrótopo. Los bloques de parafina fueron cortados de manera perpendicular al axis apical de los tejidos, en secciones de 1 cm³.

Los cortes en el micrótopo se realizaron de 3-5 μ m de espesor y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Finalmente fueron montados usando resina sintética y estudiados bajo el microscopio óptico a 40X, las fotografías obtenidas se tomaron usando una cámara comercial de la marca Canon®.

2.4. Ética

Los animales usados en este trabajo fueron manejados de acuerdo a la guía de “Principles of Laboratory Animal Care” (NIH publicación #85-23, revisado en 1985) y la “Norma Oficial Mexicana de la Secretaría de Agricultura, ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)”, titulado “Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio” con código NOM-062-ZOO-1999, el sacrificio de los animales se basó la Norma oficial Mexicana de la Secretaría de Agricultura, ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA)”, titulado “Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres” con código NOM-033-SAG/ZOO-2014.

3. RESULTADOS

Nuestros resultados muestran una estructura densa y esférica de las nanopartículas de quitosano formadas en el procedimiento de síntesis de las mismas (Figura 1), con un tamaño de partícula de 173.9 nm, además es posible apreciar que las nanopartículas causan daño histológico sobre bazo, riñón, hígado, intestino grueso, intestino delgado y corazón.

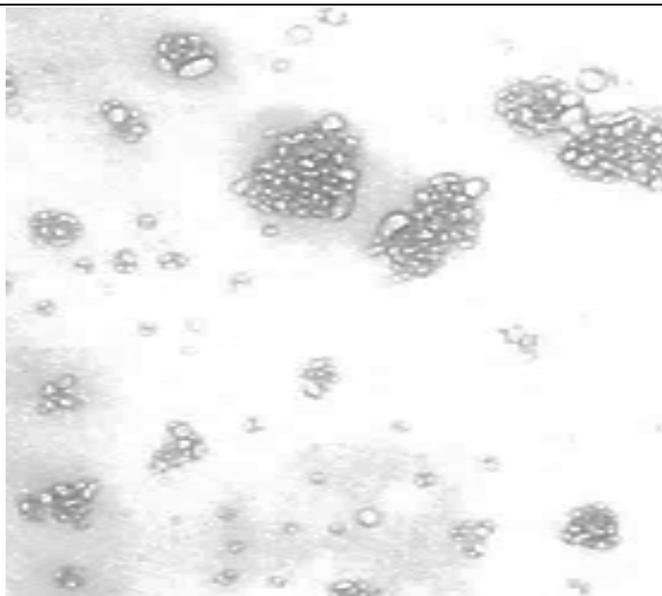


Figura 1. Fotografía por Microscopía Electrónica de Transmisión de nanopartículas de quitosano.

La Figura 2 muestra el efecto obtenido después de exponer los diversos órganos a las nanopartículas. La imagen 2A, 2C, 2E y 2G corresponden al bazo, hígado, corazón y riñón, respectivamente. Tratados con nanopartículas en estos órganos es posible apreciar un daño mayor al tratarse de órganos altamente irrigados. En el caso del hígado no es posible apreciar los hepatocitos con su forma poliédrica con núcleos más compactos al compararlos con el control (Figura 2D), lo que podría sugerir un posible proceso inflamatorio por la presencia de neutrófilos. En corazón es posible apreciar una desorganización del músculo cardíaco sin que los discos intercalantes sean visibles, además de la presencia de sangre en el tejido que puede ser indicativo de un daño

cardiotóxico (Figura 2E). En el caso del riñón (Figura 2H) es posible apreciar los túbulos contorneados distales, observándose el abundante citoplasma en su estructura característica principal de estas estructuras, lo cual no es posible apreciar en el tejido tratado con las nanopartículas (Figura 2G).

En la imagen del intestino grueso (Figura 2I) no es posible apreciar la morfología normal de las glándulas caliciformes, además de observar la presencia de sangre, lo cual no ocurre en el control (Imagen 2J). En el intestino delgado tratado con nanopartículas se puede apreciar un incremento en la cantidad de mucina que este órgano secreta (Figura 2K), lo cual no se aprecia en el tejido control (Figura 2L).

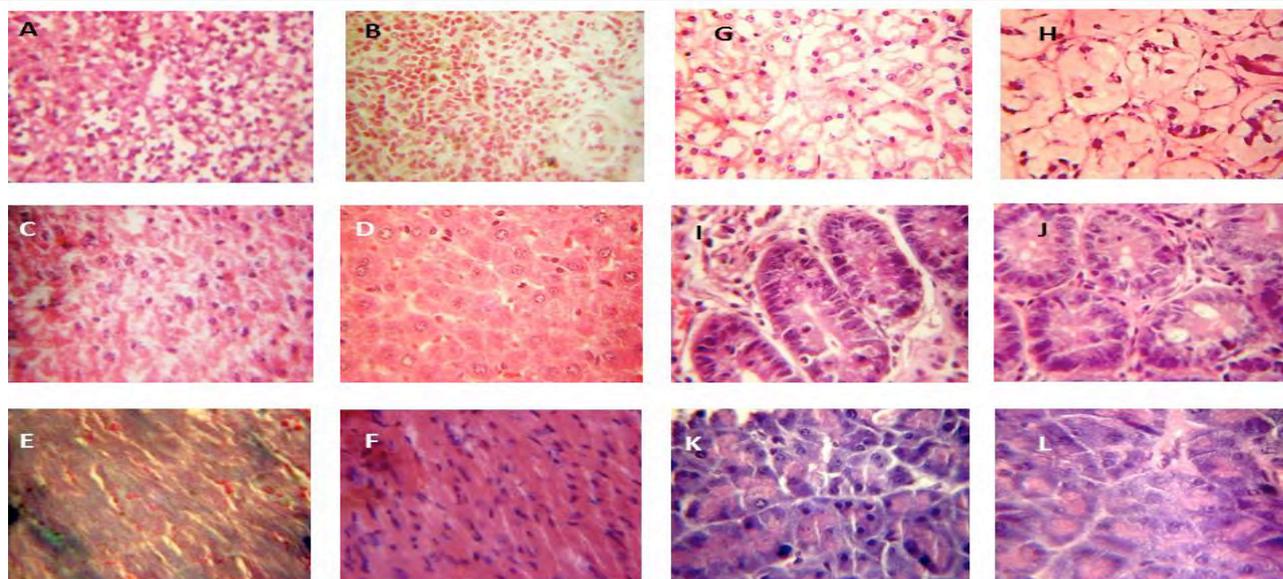


Figura 2. Efecto histológico por exposición aguda a Nanopartículas de Quitosano (NPQ) en ratones BALB/c. La Imagen A representa el bazo tratado con NPQ, la imagen B corresponde al bazo control, la imagen C corresponde al hígado tratado con NPQ, la imagen D representa al hígado control, la imagen E corresponde al corazón tratado con NPQ, la imagen F corresponde al corazón control, la imagen G corresponde al riñón tratado con NPQ, la imagen H representa al riñón control, la imagen I corresponde al intestino grueso (IG) tratado con NPQ, la imagen J al IG control, la imagen K al intestino delgado (ID) tratado con NPQ y la imagen L al ID control.

4. DISCUSIÓN

Los mecanismos de toxicidad de las nanopartículas no han sido totalmente esclarecidos, aunque existen argumentos que sugieren que uno de los principales mecanismos de nanotoxicidad *in vivo* es la inducción de estrés oxidativo por generación de radicales libres e inflamación causados principalmente en nanopartículas metálicas (13).

El daño observado en el bazo puede deberse en parte a que este órgano está altamente irrigado y es parte importante del sistema inmune. Hay evidencia que propone que las células del sistema inmunológico participan en la distribución de nanopartículas en los diferentes órganos y los macrófagos pudiesen ser los responsables de transportar las nanopartículas dentro del organismo a través de diferentes barreras (14). Se ha descrito que la distribución de las nanopartículas depende de las propiedades de cada tipo de nanopartícula en particular y, que estando dentro de la célula, éstas podrían

concentrarse dentro del citoplasma o en organelos como los lisosomas, por lo tanto los efectos tóxicos que las nanopartículas pudieran producir serían en el orden de acumulación en los diferentes órganos y señalan el siguiente orden de acumulación: hígado > bazo > médula > cerebro (15), lo cual pudiera explicar el daño observado en los tejidos expuestos a las nanopartículas de quitosano en este estudio.

Las nanopartículas de quitosano son partículas que se han propuesto como una alternativa en el transporte de fármacos insolubles en agua debido a su tamaño, a su capacidad de atravesar barrera hematoencefálica e intestinal, así como por su alta biodisponibilidad y a que son polímeros biodegradables; sin embargo, hasta el momento no existe evidencia suficiente para considerar estas estructuras como seguras en su uso farmacológico. Nuestros resultados muestran que estas partículas en volúmenes grandes a una exposición subaguda son tóxicas, alterando la histología del corazón, hígado, bazo, intestino

y riñones.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los datos obtenidos podemos decir que las nanopartículas de quitosano son tóxicas al ser expuestas a grandes volúmenes en ratones de la cepa BALB/c ya que causan alteraciones histológicas en corazón, hígado, bazo, riñón, intestino delgado e intestino grueso.

6. CONFLICTO DE INTERESES

Los autores aprobamos en su totalidad el contenido del trabajo (incluyendo cuadros y figuras), en caso de que el trabajo sea aceptado, manifestamos nuestra adhesión a los términos y condiciones estipulados en las Normas para la publicación de manuscritos en Salud Pública de México, por lo que estamos de acuerdo en transferir los derechos de autor sobre el mismo a Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia, y autorizamos en consecuencia su reproducción en cualquier idioma y medio físico o electrónico, por sí o por medio de alguna otra persona física o moral a la que se otorgue la posibilidad de reproducción. Declaramos que el artículo sometido es original y no ha sido publicado total o parcialmente; tampoco se ha sometido para su publicación por ninguno de los coautores ni por otros autores de manera simultánea a ninguna otra revista nacional o extranjera.

El artículo no contiene material que pudiera violar los derechos de autor de un tercero. En caso de que exista material que haya sido previamente publicado (e.g., figuras, cuadros), se da el crédito correspondiente al autor y la fuente originales y se anexará, en caso de aceptación, el permiso para reproducirlo. Por lo cual los autores declaramos que no existe conflicto de intereses.

7. AGRADECIMIENTOS

CONACyT, Posgrado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina-UNAM. PAPIIT IT200614, Cátedra PACTIVE: Diseño de moléculas bioactivas.

Cuerpo Académico de Farmacología Computacional-UNCA.

Oscar Zuñiga is a doctoral student from Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and received fellowship from CONACYT.

8. REFERENCIAS

1. Zhang L, Gu FX, Chan JM, *et al.* Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 83(5):761-9
2. Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B* 2010; 75(1):1-18
3. Kumar SS, Kumar PA. Toxicological and Regulatory Consideration of Pharmaceutically Important Nanoparticles. *J Curr Pharma Res* 2010; 3(1): 8-12
4. Majeti NVRK. A review: chitin and chitosan applications. *React Funct Polym* 2000; 46(1), 1-27

5. Lee DW, Powers K, Baney R. Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles. *Carbohydr Polym* 2004; 58:371-7.
6. Amidi M, Mastrobattista E, Jiskoot W, *et al.* Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; 62(1):59-82
7. Sayin B, Somavarapu S, Li XW, *et al.* Mono-N-carboxymethyl chitosan (MCC) and N-trimethyl chitosan (TMC) nanoparticles for non-invasive vaccine delivery. *Int J Pharm* 2008; 363(1-2):139-48
8. Borchard G. Chitosans for gene delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 52(2):145-50
9. Bonferoni MC, Sandri G, Rossi S, *et al.* Chitosan and its salts for mucosal and transmucosal delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 2009; 6(9):923-39
10. dos Santos KS, Coelho JF, Ferreira P, *et al.* Synthesis and characterization of membranes obtained by graft copolymerization of 2-hydroxyethyl methacrylate and acrylic acid onto chitosan. *Int J Pharm* 2006; 310(1-2):37-45
11. Kim JH, Kim YS, Park K, *et al.* Antitumor efficacy of cisplatin-loaded glycol chitosan nanoparticles in tumor-bearing mice. *J Control Release* 2008; 127(1):41-9
12. Schipper NG, Varum KM, Stenberg P. Chitosan as absorption enhancers of poorly absorbable drugs. 3: influence of mucus on absorption enhancement. *Eur J Pharm Sci* 1999; 8: 335-43
13. Park MV, Neigh AM, Vermeulen JP, *et al.* The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. *Biomaterials* 2011; 32(36): 9810-7
14. Sadauskas E, Wallin H, Stoltenberg M, *et al.* Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. *Part Fibre Toxicol* 2007; 4:10-7.
15. Monteiro-Riviere NA, Tran L. *Nanotoxicology, Characterization, dosing and health effects*, Florida: Editorial CRC Press 2007; pp 392 -399.



Biological relevance of a mysterious hydroxyl group

Title in Spanish: *Relevancia biológica de un misterioso grupo hidroxilo*

M.^a del Carmen Avendaño López¹

¹Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid.

ABSTRACT: Evolution is linked to gene loss, being of biological relevance the inactivation of *CMAH* gene which made humans genetically unable to produce the sialic acid *N*-glycolylneuraminic (Neu5Gc). This acid acts as a foreign antigen after incorporation into tissues from dietary components, interacting with human anti-Neu5Gc antibodies thus promoting inflammation and cancer progression. Xenotransplants, stem cells and drugs of biological origin may be contaminated by Neu5Gc. The binding chemistry of the monoclonal antibody 14F17, which is able to discriminate the tumor-specific antigen *N*-glycolyl GM3 from the closely related *N*-acetyl GM3 on the basis of the presence of a single additional hydroxyl group in the former, reveals some clues of this phenomenon that could be of interest in new cancer immunotherapy approaches.

RESUMEN: La evolución lleva consigo la pérdida de diversos genes ancestrales, siendo relevante la inactivación en los seres humanos del gen *GMAH* que nos hace genéticamente incapaces para producir el ácido siálico *N*-glicolilneuramínico (Neu5Gc). Este ácido se comporta como un antígeno extraño si se incorpora a los tejidos a partir de componentes alimentarios, pudiendo interactuar con anticuerpos humanos anti-Neu5Gc y promover inflamación y cáncer. Xenotrasplantes, células madre y medicamentos de origen biológico pueden estar contaminados con Neu5Gc. El conocimiento de las interacciones de enlace en el anticuerpo monoclonal 14F17, capaz de discriminar el antígeno tumoral *N*-glicolil GM3 de su análogo *N*-acetilado debido a la presencia de un grupo hidroxilo adicional, está dando algunas claves de este fenómeno, cuya aplicación podría ser de interés en la inmunoterapia del cáncer.

*Corresponding Author: avendano@farm.ucm.es

Received: July 5, 2016 Accepted: July 5, 2016

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 274-282

Language of Manuscript: Spanish

1. LA EVOLUCIÓN ESTÁ LIGADA A LA PÉRDIDA DE GENES O DE SU FUNCIÓN

La enorme cantidad de datos que están proporcionando los estudios genómicos comparados gracias a los avances tecnológicos y metodológicos, está demostrando que la ausencia de un gen o cualquier variación génica que suponga una pérdida de función en la evolución de una determinada especie es de gran relevancia en biología y biomedicina, siendo especialmente importante el conocimiento de los genes esenciales para la vida y de los que son responsables de las enfermedades humanas (1). Los Dres. Cañestro y Albalat concluyen en una reciente revisión, a través de ejemplos que abarcan desde las bacterias a los hongos y desde las plantas a los animales incluyendo a los seres humanos, que el motor de la evolución ha sido la pérdida de genes ancestrales (2), de forma que la evolución no ha supuesto una mayor complejidad en los humanos por ganancia de genes (3) sino que los animales, y también los hombres, han perdido genes que compartíamos. Un ejemplo representativo es *Oikopleura dioica* (Figura 1), un organismo marino de unos tres milímetros que posee boca, ano, cerebro y corazón y forma parte del plancton en los mares tropicales y templados. Este organismo empezó a perder el 30% de los genes que compartía con los seres humanos hace unos

500 millones de años, y hoy carece de los genes necesarios para la síntesis de ácido retinoico, fabricando sus órganos en su ausencia (mientras que prácticamente todos los animales utilizan una cascada de genes para sintetizarlo, ya que éste tiene un papel importantísimo en el crecimiento y diferenciación celular para formar los distintos órganos) (4).



Figura 1. *Oikopleura dioica*.

Dentro de los primates, las enormes diferencias entre los humanos y los chimpancés se suelen asociar a una mayor pérdida de genes en estos últimos (5). No obstante, hoy se sabe que un gran número de genes humanos parecen no ser indispensables al menos para la supervivencia de las células cancerosas, lo que se conoce como *gene knockout paradox*.

Hay pérdidas genéticas que son difíciles de racionalizar. Por ejemplo: ¿por qué a lo largo de 300 millones de años el cromosoma Y humano ha perdido alrededor del 97% de sus genes ancestrales a pesar de ser esencial para la viabilidad de los varones y la diferenciación fenotípica entre los sexos? (6). Sin embargo, la paradoja genética anteriormente mencionada se ha explicado en varios casos de evolución positiva en los que se han perdido genes o su función por ser ésta innecesaria o porque ha supuesto una ventaja ante la presencia de factores ambientales nuevos, como puede ser adquirir resistencia ante una enfermedad (7). Por ejemplo, la delección genética de una porción del gen *CCR5* situado en la posición 21 del cromosoma 3 humano va ligada a la resistencia a la infección por virus VIH-1M-tropicos, porque este gen codifica a la quimiocina receptora de tipo 5 (*CCR5* ó *CD195*). Ésta es una proteína de transmembrana que funciona como correceptor para la entrada de dichos virus al interior celular (8), aunque se cree que como el SIDA es una enfermedad muy moderna en los seres humanos, la selección del alelo no funcional de *CCR5* se produjo por la presión de otros virus.

En la evolución de los homínidos, la funcionalización del gen *MYH16* (*myosin heavy chain 16*) resultó innecesaria cuando el cambio de dieta redujo la necesidad de disponer de unos músculos poderosos en las mandíbulas, por lo que la pérdida de dicho gen en el linaje humano tras su separación de los chimpancés podría haber facilitado un aumento del tamaño del cerebro (9). Otro ejemplo de diferenciación de otros primates ocurrió poco antes de que los humanos emigraran de África y consistió

en la fijación de un alelo nulo de la enzima caspasa-12, lo que se asocia a una protección frente a las sepsis severas (10). Se han propuesto diversos mecanismos de resistencia a la malaria ligados a una variabilidad genética (11). Por ejemplo, la resistencia a la malaria causada por las especies *Plasmodium knowlesi* y *Plasmodium vivax* se ha asociado a una mutación del gen *DARC*, que impide la expresión en los eritrocitos del receptor del antígeno Duffy para las quimiocinas (*DARC*). Este antígeno es conocido también como glicoproteína FY ó como CD234. Otra selección positiva relaciona la mayor protección frente malaria producida por *P. falciparum* en áreas donde es endémica con la mayor frecuencia de individuos con glóbulos rojos del grupo sanguíneo O (12). Esta ventaja estaría ligada a la delección en éstos de la guanina-258, que origina una glicosiltransferasa incapaz de modificar el antígeno H (13).

2. PÉRDIDA DE LA FUNCIONALIZACIÓN DEL GEN *CMAH*

Los chimpancés, bonobos, gorilas y orangutanes no sufren enfermedades cardíacas, cánceres, artritis reumatoide o asma bronquial frecuentes en humanos. Tampoco enferman de malaria. Estas diferencias se asocian a su capacidad para producir el ácido N-glicolilneuramínico (*Neu5Gc*), mientras que los seres humanos producen su precursor *N*-acetilneuramínico (*Neu5Ac*) pero carecen de la hidroxilasa *CMAH* que introduce el átomo de oxígeno extra para transformarlo en *Neu5Gc*. Según se indica en la Figura 2, esta oxidación es irreversible y ocurre a nivel del ácido citidina monofosfato-*N*-acetilneuramínico (*CMP-Neu5Ac*) para originar ácido citidina monofosfato-*N*-glicolilneuramínico (*CMP-Neu5Gc*). La no funcionalización del gen *CMAH* que codifica esta enzima ocurrió hace aproximadamente 3,2 millones de años, tras la divergencia de los humanos y los grandes simios africanos (14).

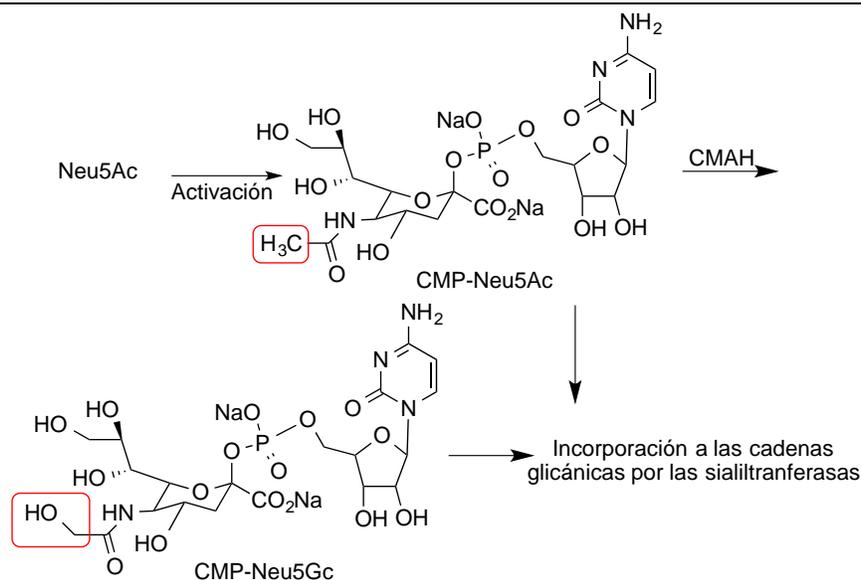


Figura 2. Reacción catalizada por la enzima *CMAH*

Debido a que los humanos son capaces de producir anticuerpos específicos contra Neu5Gc, la antigenicidad de las hembras podría haber eliminado los antígenos paternos extraños y fijar la pérdida de función en los alelos reduciendo la compatibilidad reproductora (15). Se cree que esta delección permitió que el cerebro humano siguiera creciendo tras el nacimiento (Figura 3) (16), aunque también podría haber estado motivada por una grave infección, ¿quizás de origen extraterrestre? (17), causada por microorganismos que se enlazan específicamente a Neu5Gc, cuya ausencia favorecería que la infección dejara de progresar (18). Una de estas infecciones podría haber sido la malaria originada por *P. falciparum*, ya que esta especie tiene como diana al ácido Neu5Gc presente en los glóbulos rojos. Este exitoso resultado podría haber sido posible hasta nuestros días si *P. falciparum* no hubiera evolucionado para superar este mecanismo de resistencia.



Figura 3. Reconstrucción de un *Homo erectus* hembra.

3. ÁCIDOS NEU5AC Y NEU5GC

Neu5Ac y Neu5Gc son derivados del ácido neuramínico (5-amino-3,5-didesoxi-D-glicero-D-galactononulosónico) y pertenecen al grupo de los ácidos siálicos. En ellos, el grupo amino del ácido neuramínico está sustituido por un grupo acetilo (ácido *N*-acetilneuramínico, Neu5Ac) o un grupo glicolilo (ácido *N*-glicolilneuramínico, Neu5Gc) (Figura 4).

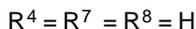
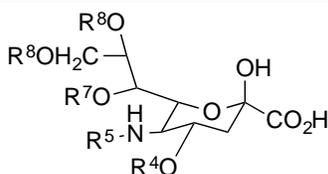


Figura 4. Estructura de los ácidos siálicos Neu5Ac y Neu5Gc

Desde que la estructura del ácido *N*-acetilneuramínico

se estableció en 1972 por métodos químicos y enzimáticos (19) se han identificado y caracterizado otros muchos derivados en los que los grupos hidroxilo están sustituidos por acetilo, lactilo, fosfato, sulfato o metilo, o se encuentran formando estructuras de tipo lactona. Todos son cetoácidos con un esqueleto glucídico de nueve carbonos que proviene de la adición de fosfoenolpiruvato (PEP) a un esqueleto glicídico de seis carbonos y se encuentran en estado libre en su forma hemiacetálica β -piranósica o en su forma α -piranósica incorporados a glicoproteínas, glicolípidos o proteoglicanos. Las células de mamífero poseen en su superficie una variedad de estos glicoconjugados en los que los ácidos siálicos ocupan generalmente una posición terminal. Por ello, están implicados en los procesos de reconocimiento celular (20): interacciones ligando-receptor, célula-célula y célula-patógeno (21). En particular, los sialoglicoesfingolípidos (gangliósidos) (22) son componentes de la membrana en las células eucarióticas que modulan la transducción de señales a su interior.

Los ácidos siálicos y sus enzimas anabólicas (sialiltransferasas) (23) o catabólicas (sialidasas, *N*-acetilneuraminosil glicohidrolasas o neuraminidasas) (24) se encuentran también en algunos microorganismos, entre ellos ciertas bacterias y protozoos patógenos, que los han adquirido por transferencia génica a partir de sus hospedadores y los utilizan para establecer relaciones simbióticas o parasitarias. Su existencia puede contribuir a la supervivencia de éstos en el huésped, escapando de sus mecanismos de defensa y contribuyendo a su difusión por ataque a polímeros glicánicos en las superficie de sus células (25). Las estructuras proteicas o lipídicas de los virus pueden estar también sialiladas (26), lo que puede ser trascendental para su difusión (27).

Como ya hemos comentado, la ausencia de Neu5Gc nos hace inmunes a diversos patógenos. Entre ellos también se encuentra la bacteria *Escherichia coli* K12, que produce diarreas graves en cerdos, terneros y corderos recién nacidos, pero no lo hace en neonatos humanos. Esta diferencia se debe a que la mucosa intestinal de éstos carece de dos gangliósidos que contienen Neu5Gc a los que se enlaza específicamente dicho microorganismo: *N*-glicolil-GM3 y *N*-glicolilsialo-paraglobósido (Figura 5) (28).

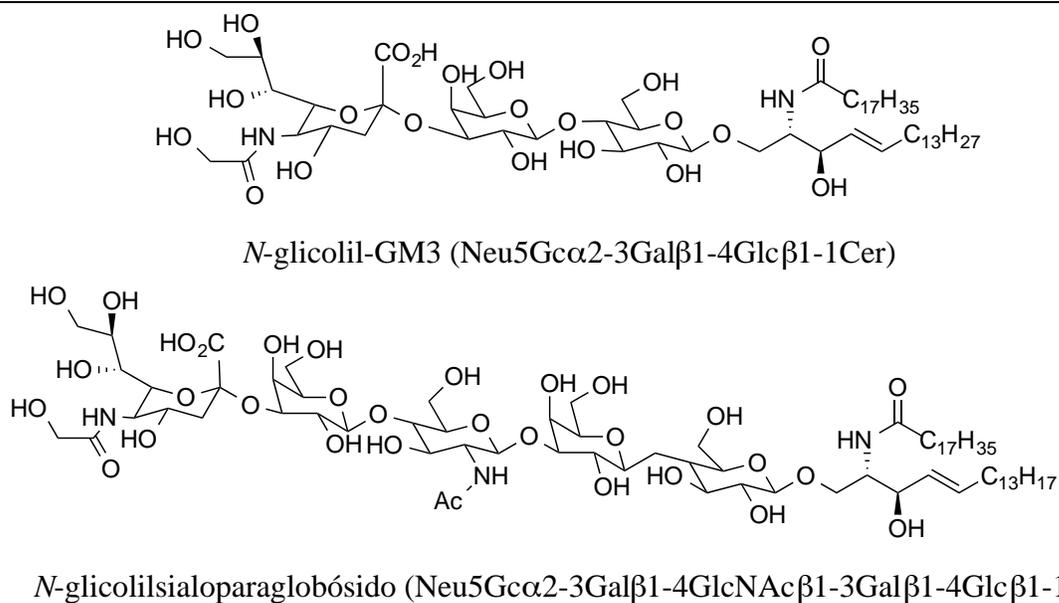


Figura 5. Estructuras de (Neu5Gc)GM3 y (Neu5Gc)sialoparaglobósido

4. INCORPORACIÓN DE NEU5GC A TEJIDOS HUMANOS. SU RELEVANCIA

Aunque el gen *CMAH* no es funcional en humanos, el ácido Neu5Gc se ha detectado en tejidos fetales y también existe en tejidos cancerosos, habiéndose propuesto como un marcador tumoral (29). Los humanos pueden incorporar ácido Neu5Gc procedente de la dieta, especialmente de las carnes rojas y de los productos lácteos (30), cuyo abuso podría generar una reacción antígeno-anticuerpo que induce inflamación crónica (31). A pesar de que la carne es uno de los alimentos que aporta más nutrientes (proteínas de alta calidad, hierro, zinc y vitaminas B6 y B12), el consumo de carnes rojas (vaca, cerdo y cordero) o procesadas se ha relacionado epidemiológicamente con la obesidad, la diabetes tipo 2, las enfermedades cardiovasculares y los cánceres de múltiples órganos. Por ello, el Fondo Mundial para la Investigación sobre el Cáncer (*World Cancer Research Fund*) y el Instituto Americano de Investigación del Cáncer (*American Institute for Cancer Research*) estudian desde hace varios años la influencia de la dieta en su prevención. Aunque estos estudios observacionales se han considerado con reservas por varios autores (32), el comunicado emitido en octubre de 2015 por la OMS previniendo sobre la peligrosidad de la ingesta de carne roja y/o procesada originó la consiguiente alarma en la población (33). El efecto cancerígeno que puede producir el consumo inadecuado de las carnes rojas ha tratado de explicarse por diversos mecanismos, entre otros la generación al cocinarlas de compuestos mutagénicos como aminas aromáticas heterocíclicas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, *N*-nitrosaminas y otros *N*-nitrosoderivados, o la generación de radicales libres producidos por el hierro del grupo hemo, pero ninguno de ellos se ha demostrado hasta el momento fehacientemente. Recientemente se ha impuesto la hipótesis de que la inflamación está causada por la xenosialitis (34).

Los orígenes de esta hipótesis se remontan a casi 100 años, cuando se describieron los anticuerpos denominados Hanganutziu-Deicher (H-D), que aglutinan eritrocitos en diversos enfermos independientemente de que éstos hayan estado expuestos o no a sueros animales (35). Posteriormente se demostró que la mayoría de estos anticuerpos reconocían a gangliósidos que contenían Neu5Gc (36). La hipótesis de la xenosialitis admite que, tras la ingesta de los alimentos que contienen ácido Neu5Gc, éste puede absorberse en su forma enlazada, metabolizarse e incorporarse a los tejidos humanos por pinocitosis. Tras su liberación a los lisosomas, puede exportarse como ácido libre al citoplasma, y con la participación del retículo endotelial y el aparato de Golgi (37), su incorporación a lipooligosacáridos humanos seguida de exocitosis puede generar anticuerpos anti-Neu5Gc. La interacción antígeno-anticuerpo puede producir inflamación, y ésta la progresión tumoral (38). Al parecer, las condiciones hipóxicas de los tumores sólidos pueden estimular la expresión del transportador lisosomal necesario para la exportación de Neu5Gc, y los factores de crecimiento pueden incrementar la pinocitosis y la incorporación de Neu5Gc a los tejidos.

Así pues, este ácido es para los humanos un compuesto inmunogénico y posiblemente un inductor de tumores que, funcionando como un antígeno heterófilo (externo), induce anticuerpos heterófilos que pueden ser muy diversos al dirigirse a diferentes epítomos de la macromolécula que contiene Neu5Gc (generalmente inmunoglobulinas M, IgM) (39). Se ha demostrado en ratones con una deficiencia de Neu5Gc semejante a la humana, que los anticuerpos anti-Neu5Gc aparecen durante la infancia y se corresponden con una dieta en la que está presente el ácido Neu5Gc, si bien esta circunstancia no puede por sí sola inducirlos ya que es necesaria la cooperación del los virus *Haemophilus influenzae* no tipificables (NTHi). Estos virus son responsables de infecciones producidas en la

infancia como otitis, sinusitis, conjuntivitis, neumonía y ocasionalmente de infecciones invasivas, y en ellos existen trazas exógenas de Neu5Gc que se han incorporado a sus lipooligosacáridos de superficie (40).

Aunque el proceso por el que se evita la acumulación continua de Neu5Gc no se conoce con detalle, se ha demostrado que los niveles de Neu5Gc exógeno se regulan. En las células humanas cultivadas en un medio suplementado con este ácido siálico, los niveles de ácido incorporados disminuyen con el tiempo utilizando el metabolismo de las *N*-acetilhexosaminas. Neu5Gc se

convierte primero por la acción de la piruvatoliasa en *N*-glicolilmanosamina (ManNGc), que se epimeriza a continuación (posiblemente por la catálisis de la enzima GlcNAc-2'-epimerasa) a *N*-glicolilglucosamina (GlcNGc). Ésta se fosforila en la posición 6 por la acción de la enzima GlcNAc cinasa para dar *N*-glicolilglucosamina 6-fosfato (GlcNGc-6-P), y este último metabolito se desglicosila de forma irreversible por la enzima GlcNAc-6-P desacetilasa para dar glucosamina-6-fosfato (GlcNH₂-6-P) y glicolato, una molécula capaz de entrar en el ciclo del ácido cítrico transformándose en glioxilato (Figura 6) (41).

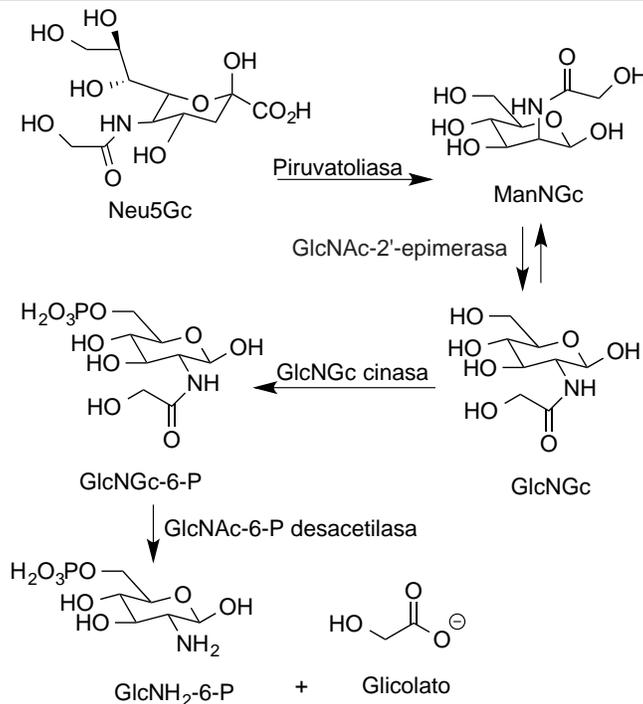


Figura 6. Eliminación de Neu5Gc en células humanas cultivadas en un medio suplementado con este ácido.

Aunque es razonable que los distintos sustituyentes en los gros OH y NH hagan variar su susceptibilidad a diferentes enzimas, todavía resulta misterioso cómo la sustitución de un grupo acetilo por un grupo glicolilo se traduce en una distribución específica según las especies y los tejidos y en unas funciones biológicas muy diferentes. ¿Es el hidroxilo adicional del ácido Neu5Gc responsable de su toxicidad?. Los ácidos siálicos tienen en común el estar cargados negativamente a pH fisiológico y, si se consideran ambas moléculas aisladas, este grupo podría alterar el pK_a (42). También es razonable que el ácido Neu5Gc sea algo más hidrófilo que Neu5Ac, pero estas diferencias influirían muy poco en las propiedades biofísicas. Sin embargo, si se reemplazan los millones de moléculas de ácido Neu5Ac que se encuentran en la superficie de los eritrocitos y de las neuronas humanas por moléculas de ácido Neu5Gc, la carga eléctrica superficial (43) y/o la hidrofobicidad y lipofobicidad relativas de estas células puede verse muy afectada. La glicosilación aberrante de la superficie celular es una característica bien conocida de las células cancerosas, por lo que un aumento en la sialación y la acumulación de Neu5Gc pueden ser

características del desarrollo de malignidades (44).

5. NUEVAS APROXIMACIONES AL TRATAMIENTO DEL CÁNCER BASADAS EN LA PRESENCIA DE NEU5GC

Varias familias de carbohidratos son antígenos tumorales que se expresan en las células malignas a niveles más altos que en las normales, por lo que se denominan *tumor-associated carbohydrate antigens* (TACAs). Estos carbohidratos pueden ser glicolípidos, que contienen un azúcar enlazado covalentemente a un lípido que se ancla en la bicapa lipídica de la membrana celular como la ceramida, o glicoproteínas en las que el azúcar está enlazado a un grupo hidroxilo de residuos de serina o treonina de una proteína. Entre los glicolípidos se incluyen gangliósidos (45) como GM1 y globósidos como Globo-H, y entre las glicoproteínas Tn, TF y STn. Actualmente se están ensayando en humanos varias vacunas terapéuticas sintéticas que contienen estos antígenos. Una de ellas, la vacuna Globo-H-KLH se encuentra en ensayos de fase II/III para el cáncer de mama metastásico (46).

Por otra parte, aunque los conocimientos que

relacionan Neu5Gc con el cáncer se encuentran todavía en la infancia (47), éstos se están incorporando a su prevención y tratamiento. La generación de anticuerpos antigangliósido ha sido difícil debido a que, en general, los carbohidratos son poco inmunogénicos y es frecuente que los anticuerpos IgM que se aíslan tengan baja afinidad y especificidad (48). Afortunadamente, se ha demostrado que la vacunación con diversas glicoproteínas como Neu5Gc-Tn que contienen Neu5Gc como azúcar terminal, asociadas a la mucina MUC1, induce una respuesta inmune en tumores epiteliales (49, 50).

Puesto que los niveles del gangliósido (Neu5Gc)GM3 están aumentados en el cáncer de mama humano y el melanoma (51), su administración podría inducir la generación de anticuerpos. En efecto, un ensayo clínico de fase I ha indicado que la vacunación con proteoliposomas que contienen (Neu5Gc)GM3 induce la producción de anticuerpos en cáncer de mama avanzado (52).

En cuanto al desarrollo y utilización de anticuerpos humanos, son pocos los que se conocen actualmente con capacidad para reconocer selectivamente epítomos glicánicos que contengan ácido Neu5Gc. La gran mayoría de anticuerpos antigangliósidos son inmunoglobulinas M (IgMs), mientras que los anticuerpos anti-Neu5Gc suelen ser inmunoglobulinas G (IgG) (54). La inmunización de ratones con el gangliósido (Neu5Gc)GM3 conjugado con lipoproteínas de baja densidad permitió el aislamiento del anticuerpo específico 14F7, que es capaz de discriminarlo de (Neu5Ac)GM3 (53). Este anticuerpo es excepcional en muchos aspectos y ha despertado gran interés. El anticuerpo 14F7 pertenece a la subclase IgG1 y es específico de tumores sólidos, produciendo la desintegración de la membrana celular (55). Tras humanizarse, 14F7 se está empezando a estudiar clínicamente como una vacuna terapéutica para el tratamiento de cáncer de pulmón de células no pequeñas con el nombre de racotumumab (Vaxira[®]) (56).

Los aminoácidos de la cadena de la región variable que contribuyen a la exquisita especificidad del anticuerpo 14F7 se han identificado a través de un extenso estudio de mutagénesis (57) pero, debido fundamentalmente al gran tamaño y flexibilidad de los gangliósidos y a pesar de la utilización de numerosos abordajes (58), todavía no se conocen las interacciones precisas de los complejos entre estos ligandos y 14F7.

y los gangliósidos. Un estudio de la estructura cristalina del fragmento Fab (*Fragment antigen-binding*) de este anticuerpo y de su modelo *docking* con *N*-glycolyl GM3 ha demostrado que Fab 14F7 contiene un lazo muy largo que divide al lugar de unión al antígeno en dos subsitios (59). Uno de éstos, formado exclusivamente por aminoácidos de la cadena pesada, es el que se enlaza. El grupo hidroximetilo que desicrimina *N*-glicolil GM3 *versus* *N*-acetil GM3 se sitúa en una cavidad hidrófila, formando enlaces de hidrógeno con el grupo carboxilo de Asp H52, el grupo NH indólico de Trp H33 y el grupo hidroxilo de Tyr H50. Este nicho no es favorable para la unión con el grupo metilo hidrófobo y, de hecho, la

mutación de Asp H52 por residuos hidrófobos de tamaño similar como valina o isoleucina imposibilita su enlace con *N*-glicolil GM3.

6. CONTAMINACIÓN DE XENOTRASPLANTES, CÉLULAS MADRE Y MEDICAMENTOS DE ORIGEN BIOLÓGICO CON NEU5GC

La presencia de trazas de Neu5Gc puede ser un gran problema clínico. La inmunoterapia con anticuerpos monoclonales frente a epítomos tumorales se ha integrado en los tratamientos del cáncer (trastuzumab contra HER2, cetuximab contra el receptor EGF, o rituximab contra CD20 son algunos ejemplos) (60). En la producción industrial de estas glicoproteínas deberían evitarse medios que contengan células que expresen Neu5Gc, a fin de aumentar su vida media y reducir su inmunogenicidad. Se ha demostrado que en la producción de cetuximab la incorporación de Neu5Gc aumenta la formación de complejos inmunes y promueve una mayor eliminación (61).

Por otra parte, el cultivo de células madre embrionarias humanas para su uso en terapias de reemplazamiento de células y tejidos, no debe hacerse en sueros animales, ya que éstos son fuente de Neu5Gc que se incorpora metabólicamente a dichas células. Cuando éstas se exponen a sueros humanos con anticuerpos específicos anti Neu5Gc se produce su muerte *in vivo*, por ello es necesaria la eliminación completa del Neu5Gc si se utiliza suero humano y el uso de células madre embrionarias que nunca se hayan expuesto a productos animales (62).

7. REFERENCIAS

1. Ritchie MD, Holzinger ER, Li R, Pendergrass SA, Kim D. Methods of integrating data to uncover genotype-phenotype interactions. *Nat Rev Genet* 2015; 16: 85-97.
2. Albalat R, Cañestro C. Evolution by gene loss. *Nature Rev Genetics* 2016; doi:10.1038/nrg.2016.39.
3. Szathmary E, Jordan F, Pal C. Molecular biology and evolution. Can genes explain biological complexity? *Science* 2001; 292: 1315-16.
4. Okuno M, Kojima S, Matsushima-Nishiwaki R, Tsurumi H, Muto Y, *et al.* Retinoids in cancer chemoprevention. *Curr Cancer Drug Targets* 2004; 4: 285-98.
5. Demuth JP, De Bie T, Stajich JE, Cristianini N, Hahn MW. The evolution of mammalian gene families. *PLoS ONE* 2006; 1: e85.
6. a) Graves JAM. Sex chromosome specialization and degeneration in mammals. *Cell* 2006; 124: 901-14. b) Bachtrog D. Y-chromosome evolution: emerging insights into processes of Y-chromosome degeneration. *Nature Rev Genet* 2013; 14: 113-24. c) Bellott DW, Hughes JF, Skaletsky H, Brown LG *et al.* Mammalian Y chromosomes retain widely expressed dosage-sensitive regulators. *Nature* 2014; 508: 494-99.
7. Papp B, Notebaart RA, Pal C. Systems-biology

- approaches for predicting genomic evolution. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 591-602.
8. Novembre J, Galvani AP, Slatkin M. The geographic spread of the CCR5 Δ 32 HIV-resistance allele. *PLoS Biol* 2005; 3: e339.
 9. Stedman HH, Kozyak BW, Nelson A, Thesier DM, *et al.* Myosin gene mutation correlates with anatomical changes in the human lineage. *Nature* 2004; 428: 415-18.
 10. Wang X, Grus WE, Zhang J. Gene losses during human origins. *PLoS Biol* 2006; 4: e52.
 11. López C, Saravia C, Gómez A, Hoebek J, Patarroyo MA. Mechanisms of genetically-based resistance to malaria. *Gene* 2010; 467: 1-12.
 12. Hedrick PW. Population genetics of malaria resistance in humans. *Heredity* 2011; 107: 283-304.
 13. Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, Hakomori S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* 1990; 345: 229-33.
 14. Schauer R, Malykh YN, Krisch B, Gollub M, Shaw L. Biosynthesis and biology of *N*-glycolilneuraminic acid. En: Inoue Y, Lee YC, Troy FA II Eds. *Sialobiology and Other Novel Forms of Glycosilation*. Osaka. Japón: Gakushin Publishing Co. 1999: pp. 17-27.
 15. Ghaderi D, Springer SA, Ma F, Cohen M, *et al.* Sexual selection by female immunity against paternal antigens can fix loss of function alleles. *Proc Natl Acad Science* 2011; 108: 17743-8.
 16. Chou HH, Hayakawa T, Díaz S, Krings M, Indriati E, *et al.* Inactivation of CMP-*N*-acetylneuraminic acid hydroxylase occurred prior to brain expansion during human evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11736-41.
 17. a) Hoyle F, Wickramasinghe Ch. *Evolution from Space. A Theory of Cosmic Creationism*. Touchstone 1984; ISBN 0-671-49263-2. b) Altwegg K, Balsiger H, Bar-Nun A, Berthelie J-J. Prebiotic chemicals-amino acid and phosphorus- in the coma of comet 67P/Churyumov-Gerasimenko. *Sci Adv* 2016; 2: e1600285.
 18. a) Hayakawa T, Aki I, Varki A, Satta Y, Takahata N. Fixation of the human-specific CMP-*N*-acetylneuraminic acid hydroxylase pseudogene and implications of haplotype diversity for human evolution. *Genetics* 2006; 172: 1139-46. b) Varki A. Multiple changes in sialic acid biology during human evolution. *Glycoconjugate Journal* 2009; 26: 231-45.
 19. Tuppy H, Gottschalk A. Isolation and purification of sialic acids. In: Gottschalk A, Ed. *Glycoproteins, Their Composition, Structure and Function*. Amsterdam: Elsevier 1972; pp. 403-49.
 20. Kitajima K, Sato Ch. The Roles of Carbohydrate Binding in Cell Adhesion and Inflammation. In: Wang B, Boons G-J Eds. *Carbohydrate Recognition. Biological problems, methods and applications*. New York: John Wiley & Sons 2011; pp. 33-63.
 21. Angata T, Varki A. Chemical Diversity in the Sialic Acids and Related α -Keto Acids: An Evolutionary Perspective. *Chem Rev* 2002; 102: 439-70.
 22. Cornish-Bowden A, Barrett AJ, Cammack R, Chester MA, *et al.* Nomenclature of glycolipids. *Carbohydr Res* 1998; 312: 167-75.
 23. Harduin-Lepers A, Vallejo-Ruiz V, Krzewinski-Recchi MA, Samyn-Petit B, Julien S, Delannoy P. The human sialyltransferase family. *Biochimie* 2001; 83: 727-37.
 24. Coefield AP, Veh RW, Wember M, Megasilk JC, Achauer R. The release of *N*-acetyl- and *N*-glycolylneuraminic acid from soluble complex carbohydrates and erythrocytes by bacterial, viral and mammalian sialidases. *Biochem J* 1981; 197: 293-99.
 25. Reglero A, Bravo IG, Fernández-Martínez V. Ácidos siálicos: distribución, metabolismo y función biológica. *An R Acad Nac Farm* 2007; 73: 833-71.
 26. a) Lenard J, Comans RW. The membrane structure of lipid-containing viruses. *Biochim Biophys Acta* 2007; 344: 51-94. b) Shiraishi H, Kohoma T, Shipaishi R, Ishida N. Carbohydrate composition of hepatitis B surface antigen. *J Gen Virol* 1977; 36: 207-210.
 27. Gubareva L, Kaiser L, Hayden FG. Influenza virus neuraminidase inhibitors. *The Lancet* 2000; 355: 827-35.
 28. Kyogashima M, Ginsburg V, Krivan HC. *Escherichia coli* K99 binds to *N*-glycolylsialoparagloboside and *N*-glycolyl-GM3 found in piglet small intestine". *Archiv Biochem Biophys* 1989; 270: 391-97.
 29. a) Irie A, Koyama S, Kozutsumi Y, Kawasaki T, Suzuki A. The molecular basis for the absence of *N*-glycolylneuraminic acid in humans. *J Biol Chem* 1998; 273: 15866-71. b) Varki A. Loss of *N*-Glycolylneuraminic Acid in Humans: Mechanisms, Consequences, and Implications for Hominid Evolution. *Yearbook of Physical Anthropology* 2001; 44: 54-69.
 30. Tangvoranuntakul P, Gagneux P, Diaz S, Bardor M, *et al.* Human uptake and incorporation of an immunogenic nonhuman dietary sialic acid. *PNAS* 2003; 100: 12045-50.
 31. Samraj AN, Pearce OMT, Läubli H, Crittenden AN, *et al.* A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression, *PNAS* 2015; 11: 542-47.
 32. a) Klurfeld DM. Research gaps in evaluating the relationship of meat and health. *Meat Sci.* 2015; 109: 86-95. b) Celada P, Sánchez-Múniz FJ. Are meat and meat product consumptions harmful? Their relationship with the risk of colorectal cancer and other degenerative diseases". *An R Acad Farm* 2016; 82: 68-90.
 33. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, El Ghissassi, *et al.* Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *The Lancet Oncol* 2015; 16: 1599-1600.
 34. Lopez-García E, Schulze MB, Fung TT, Meigs JB, *et al.* Major dietary patterns are related to plasma

- concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1029–35
35. Hanganutziu M. Hémagglutinines hétérogénéiques après injection de sérum de cheval. *CR Séances Soc Biol* 1924; 91:1457-59.
36. Merrick JM, Zadarlik K, Milgrom F. Characterization of the Hanganutziu-Deicher (serum-sickness) antigen as gangliosides containing *N*-glycolylneuraminic acid. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1978; 57: 477-80.
37. Varki A. Uniquely human evolution of sialic acid genetics and biology. *Proc Nat Acad Sci* 2010; 107: 8939-46.
38. Samraj AN, Läubli H, Varki N, Varki A. Involvement of a non-human sialic acid in human cancer. *Front Oncol* 2014; 4: 33.
39. Padler-Karavani V, Yu H, Cao H, Chokhwalala H, *et al.* Diversity in Specificity, Abundance and Composition of Anti-Neu5Gc Antibodies in Normal Humans: Potential Implications for Disease". *Glycobiology* 2008; 18: 818-30.
40. Taylor RE, Gregg CJ, Padler-Karavani V, Ghaderi D, *et al.* Novel mechanism for the generation of human xeno-auto-antibodies against the nonhuman sialic acid *N*-glycolylneuraminic acid. *J Exp Med* 2010; 207: 1637-46.
41. Bergfeld AK, Pearce OMT, Diaz SL, Pham T, Varki A. Metabolism of Vertebrate Amino Sugars with *N*-Glycolyl Groups. Elucidating the intracellular fate of the non-human sialic acid *N*-glycolylneuraminic acid. *J Biol Chem* 2012; 287: 28865-81.
42. Scheinthal BM, Bettelheim FA. Multiple forms of sialic acids. *Carbohydr Res* 1988; 6, 257-65.
43. Eylar EH, Madoff MA, Brody OV, Oncley JL. The contribution of sialic acid to the surface charge of erythrocyte. *J Biol Chem* 1962; 237: 1992-2000.
44. Varki A, Kannagi R, Toole BP. Glycosylation changes in cancer. In: Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH, Stanley P, Bertozzi CR, *et al.* Eds. *Essentials of Glycobiology*. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press 2009: pp. 617-32.
45. Birklé S, Zeng G, Gao L, Yu RK, Aubry J. Role of tumor-associated gangliosides in cancer progression. *Biochimie* 2003; 285: 455-63.
46. (a) Buskas T, Thompson P, Boons J-G. Immunotherapy for cancer: synthetic carbohydrate-based vaccines. *Chem Commun* 2009; 5335-49. (b) Zhu J, Warren JD, Danishefsky SJ. Synthetic carbohydrate-based anticancer vaccines: the Memorial Sloan-Kettering experience. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8:1399-1413; (c) Yin Z, Huang X. Recent Development in Carbohydrate Based Anticancer Vaccines. *J Carbohydr Chem* 2012; 31:143-86; (d) Fernández-Tejada A, Danishefsky SJ. *Carbohydr Chem* 2014; 40: 506-32.
47. Malykh YN, Schauer R, Shaw L. *N*-Glycolylneuraminic acid in human tumours. *Biochimie* 2001; 83: 623-34.
48. Mukerjee S, Nasoff M, Glassy M. Characterization of human IgG1 monoclonal antibody against gangliosides expressed on tumor cells. *Hybridoma* 1998; 17: 133-42.
49. Huang ZH, Shi L, Ma JW, Sun ZY, *et al.* A totally synthetic, self-assembling, adjuvant-free MUC1 glycopeptide vaccine for cancer therapy. *J Am Chem Soc* 2012; 134: 8730-33.
50. Kaur S, Kumar S, Momi N, Sasson AR, Batra SK. Mucins in pancreatic cancer and its microenvironment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 607-20.
51. a) Marquina G, Waki H, Fernández LE, Kon K, *et al.* Gangliosides expressed in human breast cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 5165-71. b) van Crujisen H, Gallegos Ruiz M, van der Valk P, de Gruijl TD, Giaccone G. Tissue micro array analysis of ganglioside *N*-glycolyl GM3 expression and signal transducer and activator of transcription (STAT)-3 activation in relation to dendritic cell infiltration and microvessel density in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2009; 9: 180.
52. Carr A, Rodríguez E, Arango MC, Camacho R, Osorio M, Gabri M, *et al.* Immunotherapy of advanced breast cancer with a heterophilic ganglioside (NeuGcGM3) cancer vaccine. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1015-2110.
53. a) Carr A, Mullet A, Mazorra Z, Vázquez AM, *et al.* A mouse IgG1 monoclonal antibody specific for *N*-Glycolyl GM3 Ganglioside recognized breast and melanoma tumors. *Hybridoma* 2000; 19: 241-47. b) Carr A, Mesa C, Arango MC, Vázquez AM, *et al.* In Vivo and In Vitro Anti-Tumor Effect of 14F7 Monoclonal Antibody. *Hybridoma and Hybridomics*, 2002; 21: 463-68.
54. Lu Q, Padler-Karavani V, Yu H, Chen X, Wu SL, *et al.* LC-MS analysis of polyclonal human anti-Neu5Gc Xeno-autoantibodies IgG subclass and partial sequence using multi-step IVIG affinity purification and multi-enzymatic digestion. *Anal Chem* 2012; 84: 2761-68.
55. Roque-Navarro L, Chakrabandhu K, de Leon J, Rodríguez S, *et al.* Anti-ganglioside antibody-induced tumor cell death by loss of membrane integrity. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2033-41.
56. a) Fernández-Marrero Y, Hernández T, Roque-Navarro L, Talavera A, *et al.* Switching on cytotoxicity by a single mutation at the heavy chain variable region of an anti-ganglioside antibody. *Mol. Immunol.* 2011; 48: 1059-67. b) Fernández-Marrero Y, Roque-Navarro L, Hernández T, Dorvignit D, *et al.* A cytotoxic humanized anti-ganglioside antibody produced in a murine cell line defective of *N*-glycolylated-glycoconjugates. *Immunobiology* 2011; 216: 1239-47.
57. Rojas G, Pupo A, Gómez S, Krengel U, Moreno E. Engineering the Binding Site of an Antibody against *N*-Glycolyl GM3: From Functional Mapping to Novel

- Anti-ganglioside Specificities. ACS Chem Biol 2013; 8: 376-86.
58. Agostino M, Yuriev E, Ramsland PA. Antibody Recognition of Cancer-Related Gangliosides and Their Mimics Investigated Using in silico Site Mapping. PLoS ONE 2012; 7: e35457.
 59. Krengel U, Olsson L-L, Martínez C, Talavera A, *et al.* Structure and Molecular Interactions of a Unique Antitumor Antibody Specific for N-Glycolyl GM3. J Biol Chem 2004; 279: 5597-5603.
 60. Avendaño C, Menéndez JC. Biological Therapy of Cancer. In: Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs. Amsterdam (Netherlands), Elsevier 2015: pp . 577-79.
 61. Taylor RE, Padler-Karavani V, Diaz S, Varki A. Implications of the presence of *N*-glycolylneuraminic acid in recombinant therapeutic glycoproteins. Nat Biotechnol 2010; 28: 863-67.
 62. Martín MJ, Muotri A, Gage F, Varki A. Human embryonic cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. Nature Med 2005; 11: 228-32.



History, present and projections of the Pharmacopoeia

Title in Spanish: *Historia, presente y proyecciones de la Farmacopea*

Víctor Ignacio Gómez Saavedra^{1,*}, Patricia Soledad Carreño González¹, Marcela Eugenia Escobar Peña¹, Andrea Daniela Irarrazabal Verdugo¹, Cecilia del Carmén Rubio Lagos¹, Caroline Ruth Weinstein Oppenheimer¹

¹Escuela de Química y Farmacia, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

ABSTRACT: The term "pharmacopoeia" seems to have originated in Greece in the second or third century B.C., and is derived from φαρμακον, which means "spell, poison or drugs", and ποιεῖν that means "making". This text was born from the need of a text to establish standards and reference materials to meet quality requirements, safety and efficacy for pharmaceuticals. For over 500 years since the appearance of the first pharmacopoeias, there has been joint collaborative work between physicians and pharmacists, later with larger participation of pharmacists, and efforts for harmonization among various national and regional pharmacopoeias to be inclusive of the global market. In addition, a continuous update and modernization of the contents has been carried out, moving from the natural to the chemical and currently to the chemical, natural and biological, together with the addition of innovative methodologies giving rise to today's more modern and comprehensive current pharmacopoeial monographs.

RESUMEN: El término "farmacopea" parece tener su origen en Grecia en el siglo II o III A.C y deriva de φαρμακον que significa hechizo, veneno o droga y ποιεῖν que significa hacer. Nace de la necesidad de disponer de un texto que estableciera normas y materiales de referencia para satisfacer los requerimientos de calidad, seguridad y eficacia de los productos farmacéuticos. En el transcurso de más de 500 años desde la aparición de las primeras farmacopeas, se generó trabajo en conjunto entre médicos y farmacéuticos, con predominio posterior del farmacéutico, armonización de los contenidos entre los diferentes textos, tanto nacionales como regionales para cubrir el mercado global. También se ha efectuado una actualización continua y modernización de los contenidos, transitando desde lo natural a lo químico y en la actualidad a lo químico-natural-biológico, en conjunto hoy en día con la incorporación de nuevas y sofisticadas metodologías que generan monografías, más modernas y completas.

*Corresponding Author: victor.gomez@uv.cl

Received: June 14, 2016 Accepted: October 3, 2016

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 283-296

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

En 1952 George Urdang, profesor de la Escuela de Farmacia de la Universidad de Wisconsin, USA hizo la siguiente reflexión sobre la farmacopea y de la forma de referirse a ella como "la biblia del farmacéutico" "Como toda metáfora, solo expresa una verdad a medias, pues mientras la biblia se puede interpretar de diferentes modos pero no alterarse, la utilidad de la farmacopea la determinan precisamente una única manera de interpretarla y los cambios periódicos que tiene que sufrir a fin de mantenerse al día con los últimos progresos de las ciencias". Estas modificaciones periódicas se deben a nuevos descubrimientos, reducción de principios activos en desuso y cambios en sus formas farmacéuticas y dosis (1). Lo anterior ha permitido la incorporación de nuevos principios activos y la actualización de metodologías, acorde a las nuevas tecnologías, para la determinación de parámetros de calidad, seguridad y eficacia (2), con el fin

de mantener la uniformidad y el control de calidad de los medicamentos disponibles en el mercado, evitando adulteraciones y sustituciones (1).

Las farmacopeas tienen como objetivo establecer normas y especificaciones de referencia para armonizar el trabajo, beneficiar a la población (3) y satisfacer los requerimientos de los productores de materias primas (elaboración de sus documentos de calidad), industria farmacéutica (evaluación de la calidad de sus materias primas), farmacias de hospital y comunitarias (recetario magistral), laboratorios de producción, control de calidad, investigación, autoridades de vigilancia, académicos y estudiantes dentro de una región, país o comunidad de países (4).

Otros objetivos para elaborar una farmacopea destacan afanes nacionalistas basados en que la posesión de una farmacopea propia es prueba de soberanía y unidad nacional y es una forma de potenciar la economía, al

incluir los productos de su territorio e industria (5).

1.1. Historia de la farmacopea

La humanidad ha consumido sustancias medicamentosas desde el comienzo de su historia, tiempo en el cual, siempre ha existido alguna evidencia de control de estas sustancias, a través de diferentes formas de regulación según cada época (6). Una de estas formas de regulación son las farmacopeas.

El término “*farmacopea*” parece tener su origen en Grecia en el siglo II o III A.C, a través del escritor griego Diógenes Laertius, quien utilizaba esta palabra para definir a la preparación de medicinas, pues deriva de *φάρμακον* que significa hechizo, veneno o droga y *ποιεῖν* que significa hacer (3,7), pero en ningún caso como un libro que tratase sobre medicinas (7).

El surgimiento de las farmacopeas respondió a la división de la labor de médicos y farmacéuticos, lo que motivo a la elaboración de códigos oficiales con la finalidad de agilizar la función prescriptora de los médicos y la elaboración de los medicamentos por parte de los farmacéuticos, de forma que la medicación aplicada o empleada por los enfermos de un determinado territorio fuera similar (3). Esto determinó la definición histórica de farmacopea como “*aquel texto redactado o solicitado por una autoridad (nacional o regional) o por alguna organización con poder para autogobernarse, que pudiendo o no llevar grabado el término farmacopea en su presentación, tiene como misión establecer estándares y especificaciones de calidad para medicamentos utilizados en una determinada región o país, y que posee fuerza legal, o ha sido aceptado para armonizar el ejercicio profesional, en ese territorio o unidad política*” (3,7). Una especificación de calidad se entiende como un set de pruebas que confirman la identidad y pureza del medicamento y un estándar es una sustancia caracterizada que ayuda a asegurar la calidad, identidad y pureza (3).

La primera farmacopea oficial de la que existen pruebas históricas es el *Receptario Florentino (Nuovo receptario composto dal famosissimo Chollegio degli eximii Dottori della Arte et Medicina della ínclita ciptá di Firenze)* impreso en Florencia en 1498 (3, 8). La misión fundamental de esta farmacopea fue eliminar las grandes diferencias en lo que respecta a la preparación de los medicamentos existentes en esta ciudad (3). Fue elaborada por médicos, y permitió facilitar sus relaciones con los boticarios. Se conformó de tres partes: una destinada a la identificación de medicamentos simples, otra referida a medicamentos compuestos y la última a establecer ciertas formas de elaboración complicadas. La mayoría de las drogas ahí descritas derivaban de los minerales, animales y vegetales (9).

Previo a la aparición del *Receptario Florentino*, e incluso durante el periodo de su publicación, el deseo de controlar la calidad de los medicamentos era algo patente, ejemplo de esto era lo que sucedía en Salerno, donde los boticarios eran controlados estrictamente, obligados a elaborar drogas fiables y de calidad (6), mismo tiempo en

el que Frederick II (Rey de Sicilia) redactó una código de leyes denominado *Liber Augustalis*, primera colección de normas relacionadas a cómo elaborar los medicamentos (10). Junto con esto surgieron una serie de formularios, que debido a la falta de evidencias de su fuerza legal, no pueden considerarse como farmacopeas como el *Antidotarium Nicolai* (1100), breve formulario elaborado por el Colegio Médico de Salerno, que contenía 142 monografías de medicamentos compuestos, de los cuales más del 50% de los preparados poseían drogas narcóticas y alucinógenas (8,11). A pesar de no ser considerado como una farmacopea por muchos autores, existen cartas patentes del rey Juan en agosto 1353, que imponían a los boticarios de París la obligación de tener este formulario, corregido por el Consejo de Médicos y Asistentes (11). Otros formularios no oficiales fueron *Lumen Apothecariorum* (1481), *Luminare Majus* (1492), primer libro escrito por un boticario, y *Thesaurus Aromatariorum* (1496) (11).

El 29 de agosto de 1510 Fernando el Católico concedió el privilegio al colegio de boticarios de Barcelona, gremio fuerte e influyente que se gobernaba con plena autonomía al igual que en toda España (muy similar a lo que sucedía con los gremios de la Republica Florentina en el caso del *Receptario Florentino* (12)), para uniformar las preparaciones farmacéuticas (3,7). Es así como nace la segunda farmacopea del mundo la *Concordia Apothecariorum Barchinonensium* (1511). El término concordia hace referencia a que fueron elaboradas “de común acuerdo” con el consentimiento y aceptación de todos los farmacéuticos y médicos (7,13), mientras que de la palabra *apothecarium* deriva apotecario que es otra manera de denominar al boticario o farmacéutico (13). En este texto se encuentran descritas 370 fórmulas que reúnen 617 drogas en formas farmacéuticas de pastillas, conserva, jarabes, infusiones y cocciones, laxantes, ungüentos, colirios y aceites (14).

Durante el siglo XVI aparecen otros textos consideradas farmacopeas, entre ellas la segunda edición de la concordia de Barcelona la *Concordia Pharmacopoliarum Barchinonensium* (1535) y las concordia elaboradas por el colegio de boticarios de Zaragoza denominada *Concordia Aromatariorum Civitatis* (1546), que estaba conformada por 248 formulas, 467 drogas y como formas farmacéuticas destacaban polvos, jarabes, decocciones, píldoras emplastos, ungüentos y aceites (15). Esta farmacopea tenía la particularidad de incluir la primera tarifa oficial para la tasación de medicamentos (7,13,15), luego en 1553 se editará una segunda edición bajo el nombre de *Concordia Aromatariorum Caesar-augustanensium* (1553). Cabe mencionar que del término *aromatarium* deriva aromatario que es otra forma de denominar a los farmacéuticos (11).

A finales del siglo XVI se edita por última vez la *Concordia de Barcelona* y a principios del siglo XVII el colegio de boticarios de Valencia edita la *Officina Medicamentorum* (1601) y una segunda edición, aunque

sin grandes cambios, en 1698. Este texto fue adoptado por el colegio de Zaragoza por el retraso de una farmacopea general para el territorio español (7).

En paralelo a las concordias aparece en Nuremberg el *Dispensatorium* (1546), que muchos consideran como la segunda farmacopea a nivel mundial, sin embargo como se ha expuesto las concordias si cumplen con la oficialidad necesaria (7). Este libro poseía información sobre hierbas, minerales y otras drogas crudas ordenadas de forma alfabética, su identificación, preparación, usos y algunas nociones terapéuticas (8).

El término de farmacopea recién fue utilizado por primera vez, para denominar algún texto, en dos publicaciones privadas y en una pública, la primera en Francia en 1548 donde Jacques Du Bois, famoso médico y galenista francés, escribió el libro *Pharmacopoeae, Libri Tres* y la segunda en Alemania en 1560 denominada *Pharmacopoeia in Compendium Redacta* escrita por el médico Bretschneider-Placotomas, y por último la segunda farmacopea oficial alemana *Augstburgensis Pharmacopoeis*. A pesar de ello, estos compendios no se consideran farmacopeas pues, se dedicaban exclusivamente al uso práctico, eran elaborados por un solo autor y presentaban solo una escasa información sobre adulteración y los usos médicos de drogas compuestas (5).

La modernización de las farmacopeas surge posterior a la Pharmacopoeia Londinensis de 1618 que contenía un gran número de drogas, de las cuales la mitad eran de origen vegetal (raíces, hojas y semillas) en formas farmacéuticas como linimentos, jarabes, decoctos y aguas aromáticas (8). Además, combinaba el libro de texto con el formulario predominando este tipo de farmacopea hasta fines del siglo XVIII. Gracias a la mayor instrucción de los farmacéuticos, mayor cantidad de literatura científica y a la sustitución de drogas poco definidas por otras bien estudiadas y por productos de investigación moderna, se hizo anticuada la combinación de libro de texto-formulario, y se dio lugar a obras de normas más que a una colección de fórmulas (16).

Conjuntamente con la aparición de la sexta edición de la *Pharmacopoeia Augustana* (precursora de la farmacopea alemana) se dio paso a la primera norma farmacéutica oficial que incluía productos químicos de uso interno, ya que las farmacopeas oficiales hasta el momento contenían, en su mayoría, productos de aplicación externa. Gracias a esto la *Pharmacopoeia Augustana* se distribuyó no solo en Alemania, sino también a nivel mundial, con lo que surgió un espíritu de competencia por estar al día entre las diferentes farmacopeas existentes (16). También surgen otros textos oficiales como la *Farmacopea Sueca* (1755) que fue la primera en aceptar la terminología binaria de Linneo denominar las especies vegetales (15).

Con el transcurso del tiempo las diferentes farmacopeas regionales que existían dentro de un país fueron reemplazadas por farmacopeas nacionales, tal es el caso de Gran Bretaña con el reemplazo de las *Farmacopeas de Londres* (1618), *Edimburgo* (1699) y *Dublín* (1793) por la *British Pharmacopoeia* (BP) en 1864,

libro conformado por una lista de medicamentos y compuestos distribuidos en monografías, además de sus métodos de preparación junto con pesos y mediciones necesarias para su preparación (8). En Alemania esto sucedió en 1865 cuando se demandó la elaboración de una farmacopea nacional y es así como en 1872 surge la farmacopea germánica o *Deutsches Arzneibuch* (DAB) con más de 900 monografías, entre las que se destacaban los primeros fármacos de síntesis orgánica, avances en métodos analíticos, especificaciones y desarrollo de estándares. Cien años después en 1978 editarían su primera *Farmacopea Homeopática* (4).

En España en 1739 el protomedicato, entidad encargada de vigilar el ejercicio de las profesiones sanitarias, por orden del Rey Felipe V, editó la *Farmacopea Matritensis*, primera farmacopea española de ámbito nacional de uso obligatorio por todos los farmacéuticos del territorio español (7,11). Tuvo una segunda edición 1762 que fue una simple reproducción de la primera en la que se introdujeron correcciones no significativas (7,13). En 1794 se publica la primera edición oficial de las llamadas farmacopeas españolas con el nombre de *Farmacopea Hispana*, que se caracterizó por una reducción en el número de monografías en desuso y como una forma de regular el comercio de drogas tanto en la metrópolis como en las Américas, aportando descripciones botánicas del nuevo mundo y depurando las virtudes míticas atribuidas a ciertas sustancias (7). Le siguió la segunda, tercera y cuarta edición en 1797, 1803 y 1817 respectivamente, denominándose ahora *Farmacopea Española* y contaron solo con pequeñas correcciones. La quinta edición (1865) fue encomendada por la reina Isabel II mediante real orden de 16 de mayo 1856 a una comisión de la Real Academia de Medicina de Madrid (RAM) esta obra se divide en dos secciones: en la primera se incluyen las sustancias que constituyen la materia farmacéutica y en la segunda las preparaciones que forman los medicamentos (7,13). Esta tardó 48 años debido al complejo contexto histórico que supuso el gobierno de Fernando VII tiempo en el que surgieron textos no oficiales (13). La sexta edición correspondió al año 1884 (11).

Entrando al siglo XX la RAM edita la séptima edición (1905), que innovó en el criterio de admisión de nuevos medicamentos, lo que se hizo fue elegir aquellos que habían sido acreditados por la experiencia y con los cuales se podía satisfacer las necesidades terapéutica, no incluyendo otros cuya verdadera composición o preparación se ignoraban (7). En 1930, también por la RAM, se edita la octava edición con algunas innovaciones técnicas, inclusión de los pesos atómicos, métodos biológicos, terapias de fluidos y vacunas. Ya con la décima edición (1997) cambia su denominación a *Real Farmacopea Española* (RFE) que nace en cumplimiento de la Ley del Medicamento y que se caracteriza por estar conformada completamente por monografías de la *Farmacopea Europea* (Ph. Eur) junto a algunas monografías peculiares específicas del contexto español (12). Hoy en día la RFE tiene una periodicidad de tres años

(3).

La *Pharmacopoeia of the United States of America* (USP) (**Figura 1**) publicada por primera vez en 1820, nace como una necesidad de estandarizar y armonizar fórmulas y nomenclatura, y así eliminar las diferencias que existían en los Estados respecto a la información de los medicamentos (17). A partir de su segunda edición de 1831, aumentó la participación del farmacéutico en la revisión de los contenidos farmacopeicos hasta que en 1878, la American Organization of Medicine delegó la responsabilidad de la actualización continua de la farmacopea a la American Pharmaceutical Association. En 1900 se fundó una organización permanente llamada Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos que adquirió la responsabilidad de mantener la USP, con el compromiso de los aportes de los grupos científicos, gubernamentales y de las industrias interesadas (5).

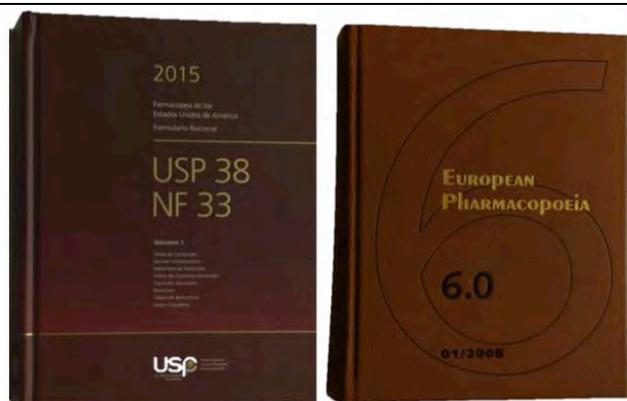


Figura 1. Farmacopea de los Estados Unidos de América (izquierda) y Farmacopea Europea (derecha).

Con el tiempo la USP desarrolló programas para elaborar materiales de referencia, revisión continua de sus contenidos, incorporación de nuevos medicamentos y armonización con otras farmacopeas. Además se tradujo la farmacopea a varios idiomas, con el fin de competir con la Ph. Eur (Figura N°1) y también realizaron alianzas con farmacopeas extranjeras, como la *Farmacopea China*, para su distribución (18). Hoy en día la USP tiene una frecuencia anual y editan dos suplementos por año (3).

Las primeras farmacopeas en México nacen, como muchas otras, con el objetivo de cubrir la necesidad de un formulario actualizado y moderno en el que se tratara de manera exclusiva la materia médica nacional, y se uniformaran, de una vez por todas, las metodologías y las nomenclaturas para preparar los medicamentos (19). Es así como 1846 nace la primera *Farmacopea Mexicana* editada por la Academia Farmacéutica de la Capital de la República (19,20), que además fue la segunda farmacopea en el continente americano después de la USP (19). Esta primera farmacopea estaba dividida en tres secciones, la primera referida a los medicamentos donde dominaban los productos de origen vegetal, la segunda sección recogía las preparaciones químicas más utilizadas en las farmacias con su respectivo método de preparación, uso, dosis e

incompatibilidades y la tercera sección estaba dedicada a las preparaciones farmacéuticas (19).

Con el regreso de la República en México se funda la Sociedad Farmacéutica Mexicana quien es la encargada de editar la primera edición de la *Nueva Farmacopea Mexicana* (1874) (20,21). Este texto, al igual que la anterior, se distribuye en tres secciones: productos naturales, productos químicos y preparaciones farmacéuticas (19). La segunda (1884) y la tercera edición (1896) se caracterizaron por un aumento paulatino de las monografías de especies vegetales y por una modernización en cuanto a las técnicas analíticas (20).

Durante el siglo XX aparece la cuarta edición (1904) y la Secretaría de Gobernación dicta que este libro será de consulta obligatoria para todas las oficinas de farmacia del Distrito Federal, transformándose en ese momento en una farmacopea propiamente tal. La estructura general de esta obra permaneció intacta, aunque las tres secciones del texto aumentaron su número de contenidos. Con la quinta edición (1925) y como en los casos anteriores, la primera sección siguió creciendo; además de que se añadieron algunas monografías de plantas nuevas, se enriqueció con láminas ilustrativas de numerosos ejemplares vegetales y animales. Es la obra más completa, la que consigue reunir el conocimiento científico acerca de las especies naturales vegetales propias del suelo mexicano, los productos químicos más utilizados, y las preparaciones emanadas de la práctica farmacéutica nacional (19).

En 1930 la farmacopea cambia su denominación a *Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos* y fue editada por el Departamento de Salubridad Pública. En este texto se excluyeron aquellos principios activos cuya utilidad o aplicación terapéutica no estuviese validada. Existió un aumento en los productos químicos y preparaciones farmacéuticas con el progresivo abandono de los extractos vegetales. La estructura del texto también cambió totalmente, se dividió en dos partes: la primera contenía las drogas, preparaciones químicas, preparaciones farmacéuticas, sueros y vacunas; mientras que la segunda abarcaba principalmente los métodos de análisis para la identificación de las sustancias medicinales (19,20). En la segunda edición (1952) se suprimió 407 monografías de la edición anterior, la gran mayoría de plantas medicinales y otros productos naturales, que habían estado presentes en los códigos farmacéuticos nacionales desde hacía más de un siglo. Por su parte, las monografías de productos químicos aumentaron en número y contenidos. En cuanto a los fármacos que se incluyeron por vez primera, aparecieron unos tan célebres como la penicilina, la sal de sodio del pentobarbital y la testosterona (19). Este patrón se repitió en las siguientes ediciones de 1962 y 1974.

La edición de 1988 cambió hasta en su nombre; a partir de ese momento se denominó *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* (FEUM) (20). En ese mismo año, y por iniciativa del Secretario de Salubridad y Asistencia, se formalizó la Comisión Permanente de la Farmacopea (CPFEUM), órgano responsable de mantener permanentemente actualizada a la FEUM y figura

fundamental en el desarrollo de la farmacopea mexicana moderna. En adelante, esta Comisión estará encargado de la elaboración, revisión permanente y actualización del texto y sus suplementos (19). En este año también se edita la primera Farmacopea Herbolaria de México (20).

La siguiente edición de la FEUM publicada en papel aparecería en el 2000. Esta edición marca un cambio al introducir nuevamente a la escena las plantas medicinales, ya que se modifica la tendencia iniciada con la farmacopea de 1930 y se retoma el criterio de reconocer a la materia médica mexicana como parte de los fármacos oficiales. Se edita por primera vez una *Farmacopea Herbolaria* oficial en la que se recogen las monografías de 76 plantas medicinales y dentro de ella un apartado que recibe el nombre de Extrafarmacopea que incluye 19 monografías. La Farmacopea Herbolaria ha sido recientemente actualizada en 2013 (19), mientras que la FEUM ya va en su onceava edición (2014) (20).

La Farmacopea Vegetal Caribeña (FVC) (2014) nació del esfuerzo colectivo durante 30 años del grupo Traditional Medicine in the Islands (TRAMIL). Tramil es un programa de investigación aplicada a la medicina tradicional del Caribe, cuyo propósito es racionalizar las prácticas de salud basadas en el uso de partes de plantas medicinales, ofreciendo una herramienta para la formación de médicos, farmacéuticos y personal de salud (21).

Para seleccionar los materiales vegetales de un total de 399 de partes de 130 especies vegetales reportadas en 11.004 encuestas etnofarmacológicas, llevadas a cabo en 64 comunidades, se utilizaron criterios químicos, farmacognósticos, farmacológicos y clínicos de de la Cuenca del Caribe. Cada monografía de la FVC poseó una ilustración de la especie, su nombre científico, sinonimia botánica, familia, distribución geográfica, descripción botánica, usos tradicionales significativos, análisis químico, actividades biológicas, preparación y dosificación, toxicidad y referencias (21).

Las farmacopeas han pasado por diferentes corrientes de pensamiento a nivel mundial. Un ejemplo de esto es la USP (5), que en su origen y desarrollo se declaró orgullosamente “autorizada por las Sociedades y Colegios Médicos” y no por el gobierno, constituyendo una empresa privada sin fines de lucro, dejando a cada estado hacer o no obligatorio que las farmacias posean un ejemplar de la última edición y de todos sus suplementos. *Este carácter ideológico también se observó en la aceptación de las diferentes farmacopeas en territorios extranjeros y a la generación de normas armonizadas que representaran a más de un país, con el fin de acelerar la elaboración de especificaciones de productos farmacéuticos y así promover el progreso económico, cultural, científico y social* (3). Además como consecuencia de la aplicación de las ciencias fundamentales a la terapéutica, la elaboración de las farmacopeas y sus monografías se ha convertido en un trabajo de equipo en el que la medicina y la farmacia están asociadas; la responsabilidad técnico y científica corresponde a la farmacia mientras que la medicina es responsable de la admisión u omisión de drogas. Con el

tiempo la balanza se inclinó hacia una mayor participación del farmacéutico (21).

La *Ph. Eur* nace en 1964 bajo el auspicio del Consejo de Europa y constituye un documento normativo cuyas monografías, tanto específicas como generales, son mandatorias para los 36 estados miembros, es decir, todos los países de la Unión Europea, con excepción de Polonia que actúa solo como observador al igual que 22 países y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (3,22,23). Este texto es aceptado en un número importante de países y tiene como objetivo establecer los métodos de control, distribución, manufactura y especificaciones que deben cumplir los medicamentos y sus ingredientes que ahí aparecen (24). En el caso de otras sustancias particulares del contexto en que se encuentra cada estado miembro requerirá las especificaciones de sus propias farmacopeas nacionales (3). Por esta razón ciertos estados miembros han optado por integrar los textos de la *Ph. Eur* a sus respectivas farmacopeas o legalizar ambas farmacopeas. Otros países simplemente han optado por discontinuar sus propias farmacopeas y solo usar la *Ph. Eur* (3).

La elaboración y aprobación de las monografías de la Ph. Eur provienen de un proceso eficiente, continuo y transparente basado en una cooperación científica tecnológica entre miembros de varios grupos de expertos provenientes de la industria, academia, autoridades regulatorias y laboratorios (22). Los estados miembros de la *Ph. Eur* pueden contribuir al desarrollo, mientras que los observadores se benefician de la experiencia de otros países en áreas específicas y además pueden participar en grupos de opinión (23).

La *Ph. Eur* constituye un documento de referencia a nivel mundial en el campo del control de calidad de drogas y extractos vegetales y, tanto por su calidad como por el elevado número de productos que aborda en comparación con otros documentos normativos. Esta farmacopea tiene dos grupos de expertos que trabajan en el campo de las drogas vegetales, extractos y aceites esenciales, además de un grupo que se enfoca en aceites y sus derivados, lo que ha llevado a triplicar el número de monografías vegetales desde 1997 a 2005 (25). El desafío de la calidad de las monografías de los principios activos herbarios o preparaciones de las mismas es un reto permanente para los expertos de esta farmacopea al igual que el establecimiento de métodos validados para su determinación (26). La *Ph. Eur* se renueva cada tres años (hoy en día esta vigente la novena edición) y edita tres suplementos al año (3).

La *Farmacopea Internacional* (*Ph. Int*), publicada por la OMS, se remonta a 1874 (27), cuando la necesidad de estandarizar la terminología y conseguir una amplia armonización mundial de las especificaciones de calidad de los productos farmacéuticos, excipientes y formas farmacéuticas llevó a la idea de producir una farmacopea internacional, a causa del aumento de los costos de la atención de salud, incremento de los costos en investigación y necesidad de cumplir con las expectativas del público (23,28). La primera conferencia, que fue

convocada por el gobierno belga y celebrada en Bruselas en 1902, dio como resultado el “Acuerdo para la unificación de las fórmulas de medicamentos potentes”, que fue ratificado en 1906 por 19 países y que dio el punta pie inicial para comenzar a elaborar una farmacopea internacional (27,29).

La primera edición se publicó en dos volúmenes 1951-1959, luego de examinar un gran número de farmacopeas nacionales, y contenía 344 monografías sobre sustancias medicamentosas, 183 monografías sobre preparados farmacéuticos (cápsulas, inyecciones, tabletas y tinturas), métodos y requisitos generales (27,29). Esta primera edición no tenía carácter obligatorio, al igual que sus ediciones posteriores, salvo que algún país la adoptara como tal, sin embargo influyó en el desarrollo de las nuevas ediciones de diferentes farmacopeas nacionales (27).

La segunda edición data de 1967 bajo el nombre de “Especificaciones para el control de calidad de preparaciones farmacéuticas”. Incorporó numerosos cambios, debido al desarrollo de nuevas tecnologías como espectroscopía infrarroja, cromatografía (columna y en papel) y radiactividad. Se eliminaron 114 monografías pero se introdujeron nuevos métodos analíticos y 162 monografías nuevas (27).

1975 se publicó la tercera edición enfocada principalmente para satisfacer las necesidades de los países en desarrollo. Esta edición se dividió en cinco volúmenes. El primer volumen sobre métodos generales, el segundo y el tercero tiene las especificaciones de calidad para la mayoría de las drogas de las listas desarrolladas por la OMS, el cuarto posee métodos y especificaciones de calidad para sustancias farmacéuticas, excipientes y formas farmacéuticas y el quinto volumen trató sobre pruebas de calidad para formas farmacéuticas (27,29).

La selección de las monografías de la *Ph. Int* se basa en un análisis de prevalencia e incidencia de las enfermedades y los medicamentos relacionados a éstas, dando prioridad a aquellos medicamentos que se utilizan ampliamente en todo el mundo, con énfasis en su valor terapéutico (29). Esta selección se lleva a cabo en colaboración con los miembros del Cuadro de Expertos sobre la Farmacopea Internacional y Preparados Farmacéuticos, especialistas de diversos países y del Comité de Expertos en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas. El proceso implica la consulta y la participación de los estados miembros de la OMS y las autoridades reguladoras de medicamentos, los centros colaboradores y de los laboratorios nacionales de control de calidad de los medicamentos en las seis regiones de la OMS (África, Las Américas, Asia Sudoriental, Europa, Mediterráneo Oriental y Pacífico Occidental), organizaciones de normalización, incluyendo las farmacopeas nacionales, y con los fabricantes de todo el mundo (25). Actualmente la *Ph. Int* se encuentra en su cuarta edición (2006) dividida en dos volúmenes (29).

Las Farmacopeas del continente asiático contienen en gran parte, sino en su totalidad, monografías sobre

medicina tradicional que derivan desde sus raíces del conocimiento, adquirido a causa de la experiencia humana (23). Una de estas farmacopeas es la *Japonesa* (JP), que se estableció en 1886 por el Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar, pero no fue hasta 1960, en concordancia con el Artículo 41 de la Ley de Asuntos Farmacéuticos, que la farmacopea nipona se transformó en una norma oficial *que define las especificaciones, criterios y métodos de prueba estándar necesarios para asegurar adecuadamente la calidad de los medicamentos alopáticos, al igual que de algunas hierbas medicinales presentes en esta farmacopea, para asegurar su eficacia y seguridad* (30).

Según lo estipulado por el Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar las revisiones de la JP se presentarán por lo menos cada diez años, sin embargo, desde la novena edición de la JP, las revisiones se han hecho cada cinco años. Además de las revisiones, se ha promulgado un suplemento dos veces cada cinco años desde la duodécima edición, así como revisiones parciales que se han hecho necesarias para tener en cuenta los recientes avances de la ciencia y lograr la armonización internacional. *Las actualizaciones de la JP se han basado principalmente en cinco principios básicos* 1) *La inclusión de todos los medicamentos que son importantes desde el punto de vista de la atención sanitaria y el tratamiento médico;* 2) *Realización de mejoras cualitativas mediante la introducción de los últimos avances científicos y la tecnología;* 3) *La promoción de la internacionalización;* 4) *La pronta revisión parcial;* y 5) *Garantía de la transparencia en relación con la revisión, y la difusión de la JP al público* (31).

India sobresale por tener seis sistemas reconocidos de medicina: ayurveda, siddha, unani y yoga, naturopatía y homeopatía. Aunque la homeopatía llegó a la India en el siglo XVIII, encontrándose hoy completamente asimilada en la cultura de la India, se ha enriquecido como cualquier otro sistema tradicional, por lo tanto, se considera como parte de los Sistemas de Medicina (32).

La Medicina Ayurvédica se divide en tres clases, a saber aquella a base de hierbas, minerales y animales. Entre estos, la formulación a base de hierbas ha adquirido gran importancia y una gran atención mundial (33). Lo anterior se debe sobre todo porque la India es reconocida por ser uno de los centros de mega biodiversidad, con cerca de 45.000 especies de plantas. Esta riqueza de la flora ha contribuido a su condición de reserva de hierbas a lo largo de la historia de la humanidad. *En la India, se han registrado cerca de 15.000 plantas medicinales, y en la comunidad se utilizan entre 7.000 a 7.500 plantas para curar diferentes enfermedades* (33). Ayurveda tiene alrededor de 700 tipos de plantas que figuran en sus sistemas medicinales, sin embargo el problema se encuentra en el proceso de fabricación, lo que causa que la reproducibilidad clínica sea difícil de lograr, ya que los componentes de las materias primas, las hierbas crudas, pueden variar a causa de diferentes factores como la ubicación geográfica, las condiciones climáticas, los riesgos ambientales, métodos de cosecha y los protocolos

de recogida, entre otros, por lo que no es fácil de estandarizar el producto final para obtener una calidad reproducible, afectando directamente su eficacia y seguridad.

Como una forma de reducir estos problemas y asegurar la calidad, se desarrolló, por parte del Ministerio de Salud y Bienestar del Gobierno de la India, la *Farmacopea Ayurvédica de la India* (1989) (API), que incluye monografías de fármacos derivados de plantas, animales, minerales y fórmulas ayurvédicas (152 compuestos). Las monografías de esta farmacopea contienen los nombres populares de las hierbas, descripción macro y microscópica, límites de materias extrañas, cenizas totales e insolubles, material extraíble en diferentes solventes, metales pesados, compuestos químicos, uso terapéutico y dosis (34). Además estas monografías incluyen los respectivos *códigos de barras de ADN* y la *metabolómica cuantitativa*, técnicas que se han vuelto cada vez más importante para la determinación de la potencia, pureza, consistencia y seguridad de los fármacos de la API y otros sistemas de medicina tradicional en todo el mundo (6). Aparte de API, en la India la *Farmacopea Siddha de la India*, la *Farmacopea Homeopática de la India* y la *Farmacopea Unani de la India* también conforman un conjunto de estándares disponibles para la regulación de hierbas medicinales de este país. En conjunto a las distintas farmacopeas vigentes en India, existe una obra no farmacopeica realizada por el Consejo Indio de Investigación Médica (ICMR) y que se denomina Estándares de calidad para plantas medicinales de la India (35).

Otro compendio oficial es la *Farmacopea de la India* (2007) que contiene especificaciones farmacopeicas con monografías para algunas plantas medicinales, la mayoría utilizadas comúnmente como agentes terapéuticos. Al igual que la API contiene especificaciones de calidad y sus respectivos ensayos (36).

La *Farmacopea de la República Popular de China* (FPRC), fue promulgada en 1949 por el Ministerio de Salud de China como respuesta a la necesidad de una norma nacionalista, científica y acorde con la situación de dicho país. La primera edición fue publicada en 1953, abarcando exclusivamente medicina tradicional china (37). La FPRC se renueva una vez cada 5 años desde 1985, incluyendo, respecto a la primera edición, monografías sobre medicamentos alopáticos y formulaciones a base de hierbas (28,37).

La décima edición de la FRPC (2015) comprende los volúmenes I al IV y contiene un total de 5.608 tipos de medicamentos, incluyendo 1.082 revisiones. El volumen I contiene un total de 2.598 tipos de materiales medicinales, el volumen II reúne un total de 2.603 tipos de medicamentos de síntesis, el volumen III comprende un total de 137 productos biológicos y el volumen IV contiene un total de 317 requisitos generales. Esta última edición ha consolidado los apéndices comunes de varios volúmenes de la farmacopea como parte de un proceso de armonización continua (38).

En cuanto a las Farmacopeas de Sudamérica, la primera farmacopea nacional de Chile, la *Farmacopea Chilena* (F.CH) fue promulgada en 1882 y estaba constituida por una obra elaborada por el médico don Adolfo Murillo y el farmacéutico don Carlos Middleton, la que en su origen fue desarrollada para participar en un certamen de la Facultad de Medicina y Farmacia de la Universidad de Chile en que obtuvo el primer premio y posteriormente el Gobierno de la época la estableció como Código Oficial de Medicamentos. Esta obra rigió hasta 1905 y se caracterizaba por incorporar un gran número de substancias vegetales, con un total de 100 monografías. Fue en este año cuando surgió la segunda Farmacopea de los autores Dr. Federico Puga Borne y el farmacéutico don Juan Bautista Miranda. Este texto contaba con 391 páginas escritas en castellano, con monografías y preparaciones ordenadas en orden alfabético entre las que destacaban el antídoto del arsénico, agua de las carmelitas y productos químicos puros como teobromina (39).

En 1938 se designó una comisión para que redactara una tercera farmacopea, la edición le correspondió a la Asociación Chilena de Química y Farmacia y se aprobó en 1940. Este libro fue editado por última vez en 1941. Los medicamentos aquí incluidos debían demostrar su utilidad terapéutica y estar suficientemente difundidos en el país. Fue así como se constituyó con 724 páginas, mayoritariamente con productos de síntesis química, incluyendo solamente 52 especies vegetales (40).

Entre 2007-2011 surge el proyecto Farmacopea Chilena, y que tuvo por finalidad crear la Institución Farmacopea Chilena, como una entidad que aporte a la elaboración de normas y especificaciones de los productos farmacéuticos que se elaboran en Chile, y de contribuir a regular y potenciar este segmento del mercado. El proyecto nace con el objetivo de mejorar y actualizar la versión oficial de la F.CH, y su contenido se orientó especialmente a materias primas de origen vegetal de uso tradicional en el país (41).

Hasta la independencia de Brasil el código oficial vigente era la Farmacopea General de los Estados y los campos de Portugal (42). En 1882 aparece la primera mención legal sobre la farmacopea que regiría en Brasil, esta fue la *Farmacopea Francesa*, a pesar de las notables diferencias entre ambos países y que no satisfacía sus necesidades, se debió utilizar hasta que se desarrollara una farmacopea brasileña. La primera *Farmacopea Brasileña* (Ph. Br) se editó en 1929 y ya para las siguientes ediciones se contaba con un comité de revisión de las monografías contenidas en la primera edición y que continuaría en la segunda edición, cuando se sometió a una revisión completa con el fin de mantenerla vigente con respecto a los procedimientos de prueba, ensayo y otros requisitos para poder así responder a las demandas de la tecnología moderna. Después de un cuidadoso estudio se eliminó de la segunda edición un gran número de drogas y diversas preparaciones galénicas de poco empleo, teniendo en cuenta la obsolescencia de la acción terapéutica de muchos fármacos y medicamentos, así como el completo desuso de

otros. Se decidió excluir gran número de monografías y se incluyeron otras de medicamentos modernos, tales como antibióticos, hormonas, vitaminas y barbitúricos (42).

La *Farmacopea Argentina* (1893) tiene como objetivo principal promover la salud pública, estableciendo las especificaciones necesarias para definir la calidad física, química o biológica de sustancias medicinales y excipientes destinados para uso humano. Este texto es de uso obligatorio para todas las farmacias, droguerías, empresas elaboradoras e importadoras y establecimientos comercializadores y/o distribuidores de drogas. Con el propósito de no esperar el largo tiempo que siempre demandó una nueva edición, utiliza suplementos para actualizar aspectos parciales de la *Farmacopea* (43).

En el plano regional, Brasil en conjunto con Argentina, Paraguay, Venezuela y Uruguay desarrollan la *Farmacopea Mercosur*, proyecto que promueve la salud pública, estableciendo las especificaciones necesarias para definir la calidad física, química y biológica de sustancias medicinales y excipientes destinados al uso humano (2,44). Otra iniciativa a nivel regional es la llevada a cabo por el *Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo* (CYTED), que a pesar que no tiene como objetivo la elaboración de una farmacopea, ha puesto en marcha un proyecto internacional (CYTED X.9) para la elaboración de monografías de calidad, seguridad y eficacia de drogas vegetales iberoamericanas (25). CYTED fue creado en 1984 mediante un Acuerdo Marco Interinstitucional firmado por 21 países de lengua hispanoportuguesa (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, El Salvador, España, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Portugal, República Dominicana, Uruguay y Venezuela) (45).

A nivel mundial, el rápido avance de la tecnología y la creciente complejidad de los principios activos determinaron la necesidad de revisar frecuentemente las farmacopeas. Para facilitar estas revisiones y la introducción de nuevas monografías y los métodos de análisis necesarios, las comisiones a cargo de desarrollar las farmacopeas adoptaron una nueva forma de presentación que consistió en dos partes: *parte I con las generalidades y los métodos generales de análisis y parte II con las monografías de las materias primas y especialidades farmacéuticas*. Se establece además que en caso de cualquier omisión, se podía utilizar la Ph. Int, la Ph. Eur y otros códigos farmacéuticos en sus últimas ediciones (42).

En la actualidad el 74% de los países no poseen su propia farmacopea, de estos un 56% utiliza la Ph.Eur o la USP y un 30% no utiliza una farmacopea (36). Según datos de la OMS existen por lo menos 38 farmacopeas nacionales, dos regionales (Europa y África) y una internacional (Ph. Int.) (23). Como se menciona con anterioridad algunos países han decidido suspender su propia farmacopea nacional, ejemplo de ello Suecia y Finlandia que solo utilizan la Ph. Eur. En otros países como Suiza, la farmacopea nacional coexiste con la Ph.

Eur, mientras que el Reino Unido ha decidido integrar plenamente los textos de la Ph. Eur en la BP. Algunas farmacopeas como la japonesa y la china presentan altos porcentajes de medicina tradicional y otras como la *DAB*, la *Ph. Br* y la *FEUM* poseen un amplio enfoque homeopático (23).

1.2. Monografía farmacopeica

Dentro del proceso que conlleva el desarrollo de principios activos y excipientes, destacan aquellas etapas enfocadas en demostrar seguridad y eficacia, es en este aspecto en que las farmacopeas han centrado sus esfuerzos, el que se traduce en sus monografías (46).

Una monografía es la unidad funcional de una farmacopea en formato escrito y, constituye un instrumento validado y clave que presenta especificaciones mínimas de calidad, seguridad y eficacia, elaborada con espíritu crítico y comprende métodos analíticos, especificaciones de calidad, indicaciones aceptadas y riesgos conocidos, otorgándole así un grado farmacopeico. Estas especificaciones de calidad son un conjunto de pruebas que confirman la identidad y la pureza del producto, determinan la potencia o cantidad de la sustancia activa y, cuando es necesario, las características de rendimiento (23). Las monografías facilitan la elaboración de la documentación de registro de medicamentos de origen vegetal, cumplimiento de los parámetros de calidad, seguridad y eficacia, constituyen elementos de información rigurosa y fiable para el profesional de la salud al compilar con espíritu crítico la información científica sobre química, farmacología, toxicología y clínica de las drogas y derivados, para elaborar sus monografías (25). Esto fundamenta su radical importancia, ya que otorgan a los científicos, gobiernos, fabricantes y otros, un estándar público para juzgar la calidad. Sin una monografía, la uniformidad, consistencia y calidad de las materias primas y los productos no se puede asegurar o al menos mantener y garantizar la salud pública (17).

Con frecuencia el proceso de desarrollo de una monografía comienza con los fabricantes, que presentan un proyecto de monografía de interés o a través de un análisis que demuestra alguna necesidad y que constituye el punto de partida para la norma pública oficial. El personal científico toma este proyecto de monografía, revisa los datos, lleva a cabo pruebas de laboratorio, y luego prepara una propuesta de monografía que se envía a un grupo de científicos expertos para que dictaminen los méritos relativos de la propuesta. En el caso de la USP una monografía aprobada por el Consejo de Europa se publica en el Pharmacopeial Forum (PF) para recibir comentarios de los actores relevantes (18).

El esquema general de las monografías es el siguiente: 1. Título y definiciones, 2. Producción. 3. Características, 4. Identificación macro y microscópica, perfil cromatográfico, 5. Ensayos físicoquímicos, tales como elementos extraños, pérdida por secado, cenizas totales, materia extraíble, posibles adulteraciones, constantes

físicas, otros, 6. Valoración, 7. Conservación, 8. Etiquetado, 9. Otras determinaciones como: metales pesados, pesticidas, contaminación microbiana y aflatoxinas (22) (**Figura 2**).

En el título de la monografía va el nombre del principio activo, en el caso de los medicamentos alopáticos; y el nombre de la planta medicinal y la parte que se utiliza, en el caso de las drogas de origen vegetal. Los títulos aparecen en español o bien, en francés o inglés, según las versiones correspondientes y en la *RFE*, la *Ph. Br* y la *FH* bajo el título figura un subtítulo en latín o el nombre científico, como es el caso de las materias primas vegetales (47).

-
- 1. Definición**
 - 2. Producción**
 - 3. Características**
 - 4. Identificación**
 - Macroscópica, microscópica
 - Perfil cromatográfica
 - Otros
 - 5. Ensayos generales**
 - Elementos extraños
 - Cenizas totales
 - Constantes fisicoquímicas
 - Materia extraíble
 - Pérdida por secado
 - 6. Valoración**
 - Métodos cromatográficos cuantitativos
 - Métodos espectroscópicos cuantitativos
 - Otros
 - 7. Posibles contaminantes**
 - Pesticidas
 - Aflotoxinas
 - Metales pesados
 - Contaminantes microbianos
 - 8. Conservación y etiquetado**

Figura 2. Esquema de una monografía. Fuente: elaboración propia.

La definición constituye una descripción oficial de la sustancia, preparación u otro objeto de la monografía. En el caso de drogas vegetales, la definición describe, por ejemplo, si se trata de una droga entera o pulverizada. La producción se refiere a aspectos particulares del método de fabricación pero no de forma exhaustiva. Contiene instrucciones de carácter obligatorio para los fabricantes y se puede referir por ejemplo a las materias primas, a los procedimientos de fabricación, su validación y su control. En el apartado de las características se incluyen algunas cualidades del principio activo o droga vegetal, por ejemplo su solubilidad. Aunque esta parte de la monografía no es obligatoria (48).

En la sección de identificación se incluyen ensayos que tienen como objetivo confirmar, con un grado de seguridad aceptable, que el producto se ajusta a la descripción dada en la etiqueta. Muchas veces existen dos identificaciones para una misma droga, siendo la primera para ser utilizada bajo cualquier circunstancia y la segunda para la

identificación siempre que se pueda demostrar, que la sustancia o la preparación proceden de un lote que esté certificado para el cumplimiento de los requisitos de la monografía. En esta sección destacan los ensayos botánicos macroscópicos, microscópicos, espectroscópicos (infrarrojo y ultravioleta-visible) y la cromatografía en capa fina (TLC). Con estas pruebas se obtienen patrones de identificación, que se pueden utilizar para detectar marcadores negativos o compuestos adulterantes, que se pueden caracterizar y registrar (49). En especial para drogas de origen vegetal, se incluyen datos de cenizas insolubles en ácido, cenizas totales, materias solubles, contenido de agua y aceites esenciales (48).

La valoración, es un apartado muy importante dentro de la monografía farmacopeica, más aún, para las materias primas herbarias, pues están compuestas por una gran cantidad de metabolitos que se encuentran formando matrices complejas, lo que dificulta la elección de los componentes a valorar. Dentro de los compuestos que conforman esta matriz, se encuentran aquellos que son determinantes de la actividad biológica de la droga vegetal o sus principios activos, aunque éstos son desconocidos para un gran número de drogas de origen vegetal. En otros casos se conocen marcadores activos que contribuyen a la actividad biológica, pero se desconoce si son los únicos responsables de esta. En las drogas que no tienen principios definidos, ni marcadores activos, se utilizan marcadores analíticos para generar especificaciones de calidad. Se usan aquellos compuestos que se encuentran en mayor o menor cantidad en la droga vegetal. Por último, existen otros constituyentes de la matriz de las drogas de origen vegetal que no son analizados en la sección de valoración como toxinas, alérgenos, sustancias inertes como azúcares o sales inorgánicas y sustancias no solubles como celulosa y lignina. Además, en esta sección se describe el método analítico utilizado, generalmente de tipo espectroscópicos y cromatográficos y la forma en que se calculan los resultados (50). Los ensayos de valoración en conjunto con los anteriores son cruciales, ya que entregan una información de sustancial relevancia tanto para conocer la calidad de la materia prima como para identificarla (49).

Finalmente en la monografía, se encuentra la sección de conservación de la droga vegetal, ahí se exponen las condiciones que permiten mantener la estabilidad del producto, el etiquetado, que describe aquellas condiciones necesarias para mostrar la conformidad y por último, se encuentran otros tipos de ensayos, como por ejemplo, determinación de impurezas tales como aflatoxinas, metales pesados y materias extrañas (12). Cabe destacar que a pesar de que una monografía se considera la unidad funcional de la farmacopea, no son el único componente de la misma, sino que también contiene otras secciones como métodos generales, especificaciones de reactivos, procedimientos de elaboración de soluciones (reactivo y valorada) y descripción de equipos (4).

1.3. Evolución de los contenidos

En los comienzos de la humanidad la medicina basada

en plantas era la base para satisfacer las necesidades de salud y enfermedad (51). Sin embargo, en los papiros descubiertos en Egipto, se observó que las secreciones y partes de animales fueron importantes elementos de la farmacopea, en conjunto con las plantas. Esto se mantuvo sobre todo en la época de las primeras civilizaciones (8).

Hasta el siglo XV la mayoría de los agentes medicinales fueron a base de plantas, minerales y animales, utilizados en formas farmacéuticas como jarabes, extractos y aceites. Fue entonces cuando aparecieron los principios de Paracelso, considerados como los progenitores de la medicina moderna. A pesar de la reacción que se generó al incluir los principios de Paracelso, al considerar que estas sustancias no eran adecuadas, sino más bien eran venenos que atentaban contra la vida, en la *Farmacopea de Londres* se incluyó sales, extractos y metales de Paracelso (24).

A finales del siglo XVIII y principios del siglo XIX los médicos europeos habían olvidado completamente la tradición herbaria, a diferencia de países asiáticos como China e India (52). Sin embargo, fue en ese momento que comenzó el estudio de la composición química de las plantas, pero poniendo foco en el principio activo y no en la planta completa. Con este enfoque los investigadores consideraron que la planta entera no es necesaria como preparación, sino más bien como una fuente para aislar el compuesto activo. Estas entidades químicas individuales se utilizaron para ser candidatas para drogas modernas, ejemplo de esto es el cambio en la USP desde su primera edición que incluía aproximadamente 150 hierbas de una lista de 300 drogas (50%) y ahora son 50 de 1100, casi un 4% (36). *Así fue como los productos naturales derivados de plantas disminuyeron* por el advenimiento de la síntesis guiada por la actividad de la estructura orgánica, la química combinatoria y el diseño computacional de fármacos (in silico) (33,53)

Las farmacopeas comenzaron a remover las monografías y métodos obsoletos, por ejemplo preparaciones que contenían hasta 30 compuestos diferentes (8), y mantener aquellos que habían sido acreditados por la experiencia y que cubrían las necesidades terapéuticas de la época (7). Fue así como las farmacopeas modernas fueron siendo modeladas con drogas de síntesis de origen químico, todo esto potenciado por un elevado énfasis en la investigación, especialización de la tecnología y aprobación de procesos costosos, lo que causó un desmedro de la representación del área herbolaria en las farmacopeas (36). Además esto se acompañó de la incorporación de nuevas técnicas analíticas, las cuales desempeñan una función determinante en todos los estadios de la vida de un fármaco, es decir, en la investigación, el desarrollo de un nuevo compuesto, el estudio de la forma farmacéutica idónea y en la producción y el control, así como en el conocimiento del estado de conservación del mismo (3).

En el periodo que abarca la primera guerra mundial, *los medicamentos biológicos como vacunas, antibióticos y agentes inmunológicos comenzaron a ser elementos de*

estudio y se incorporaron sus monografías en las farmacopeas (7). Posteriormente, también se comenzaron a adicionar diferentes radiofármacos y antiretrovirales (29).

En 1989, con el nombramiento de Jerome Halperin como Director Ejecutivo de la USP se marcó el inicio del proceso de *armonización de las farmacopeas*, con la creación del Grupo de Discusión de la Farmacopea (PDG). La globalización del mercado farmacéutico motivó esta iniciativa (22), que ocurrió tanto prospectiva como retrospectivamente (18), lo que causó que las farmacopeas participantes de estos grupos comenzaran a adaptar tanto metodologías como monografías, así se generó un proceso de mejora, adaptación de nuevos contenidos y actualización constante de estos textos (23).

Las farmacopeas comenzaron a incluir monografías de impurezas, metodologías para detectarlas y límites de tolerabilidad (29), debido a la aparición de diferentes metodologías de fabricación para lograr un mismo producto, pero con un menor gasto de recursos, pudiendo afectar la calidad, seguridad y eficacia de los medicamentos (23), a causa de la generación de diferentes impurezas derivadas de estos procesos.

En las últimas dos décadas ha resurgido con gran fuerza a nivel mundial la utilización de plantas medicinales, favorecido esto por las diferentes investigaciones que generaron conocimiento científico sobre el uso fundamentado de distintas drogas vegetales (51,54). Según lo reportado por la OMS se estima que el 80% de la población mundial utiliza medicina tradicional. Por lo mismo las farmacopeas han enfocado su esfuerzo en desarrollar monografías tanto a plantas con reconocido efecto terapéutico como sobre plantas endémicas de su geografía y extranjeras, un ejemplo de esto es la Ph. Eur que se encuentra elaborando modernas monografías de calidad para compuestos utilizados en la medicina tradicional China (55). Esto no ha sido una tarea fácil y un importante desafío, ya que existe una alta variabilidad en los constituyentes tanto de la droga vegetal en estado crudo como procesada debido a factores ambientales y genéticos (51), lo que dificulta su estandarización y regulación, lo cual limita el desarrollo, producción y comercialización de estos productos (25). A raíz de esto han establecido métodos para la identificación de código de barras de ADN, métodos para evaluar pigmentos y determinación de toxinas fúngicas, métodos por detección de espectrometría de masas, cromatografía líquida de alta resolución acoplado inductivamente a espectroscopía de masas, entre otros (38)

Algunas farmacopeas sobre hierbas son la *American Herbal Pharmacopea* (AHP), *British Herbal Pharmacopea* (BHP), y la ya nombrada *Farmacopea Ayurvédica de la India* (API). En la AHP se desarrollan, desde 1994, monografías cualitativas y terapéuticas sobre ingredientes botánicos, incluyendo muchas hierbas ayurvédicas, chinas y occidentales utilizadas con más frecuencia en los Estados Unidos. Estas monografías representan el cuerpo más completo de información sobre medicamentos a base de hierbas (35,56). Mientras que las monografías de la BHP

proporcionan normas de calidad de 169 materias primas a base de hierbas (35). En Latinoamérica destaca la próxima edición de la F.CH, texto que tiene un énfasis en monografías de plantas medicinales (nuevas y actualizadas), de uso tradicional en Chile (41). Finalmente en este ámbito también destacan las monografías de calidad sobre plantas medicinales de CYTED, del European Scientific Cooperative for Phytotherapy (ESCOP) y de la OMS, que a pesar de no conformar una farmacopea propiamente tal, contribuyen a la armonización del control de calidad y de la utilización de los medicamentos a base de plantas (25).

Hoy en día, las monografías abarcan varios tipos de sustancias tales como principios activos, excipientes, productos a base de hierbas, productos biológicos (vacunas y hemoderivados), biotecnológicos, radiofármacos, suplementos y preparaciones homeopáticas, en conjunto con procedimientos de control de calidad de materias primas y excipientes, de fabricación de productos biológicos, monografías generales para vacunas humanas y monografías generales para productos basados en anticuerpos monoclonales (38), todo esto gracias a la armonización, avances tecnológicos continuos, y la unión entre tradición y actualización (23).

1.4. Proyecciones

De los 132 medicamentos (incluyendo péptidos, anticuerpos y ácidos nucleicos) aprobados por la FDA desde 2008 a 2012, aproximadamente el 30% se originó a partir de fuentes naturales biológicas, lo que demuestra que *el aporte de los productos de origen natural para el reciente desarrollo de medicamentos sigue siendo robusto y puede que aun esté siendo ignorado* (57).

El surgimiento del desarrollo de *medicamentos biológicos* ha sido un enfoque de larga data en la industria farmacéutica sobre todo por la oportunidad de generar fármacos selectivos contra dianas complejas como proteasas, transferasas, receptores, oncogenes, entre otros. Dentro de éstos se incluyen anticuerpos monoclonales, factores de crecimiento, citoquinas, antagonistas/agonistas para receptores, hormonas y proteínas para bloquear la función de una variedad de agentes infecciosos (58). El desarrollo de este tipo de fármacos sigue en aumento sobre todo gracias al progreso de la industria biotecnológica y, a que las herramientas de la genómica han permitido elucidar funciones celulares y su relación con la fisiopatología de las enfermedades. Es probable que las proteínas terapéuticas se seguirán desarrollando a un ritmo creciente, y no cabe duda que en un futuro sean una parte importante de las farmacopeas. *Ejemplo de esto son esbozos de una clasificación, según el blanco terapéutico, de 186 principios activos tales como receptores, enzimas, canales iónicos y transportadores* (59).

2. CONCLUSIONES

Farmacopea, recetario, antidotario, oficina, concordia, etc., han permitido a lo largo de los siglos a muchos farmacéuticos elaborar medicamentos. A pesar que estos textos nacieron como textos que establecían normas y

especificaciones de referencia locales, estas se tuvieron que modificar y evolucionar en cuanto a sus contenidos, actualizando e incorporando tanto metodologías como monografías, por ejemplo de productos biotecnológicos, radiofármacos y productos a base de plantas medicinales. Esto se llevó a cabo para responder a las necesidades de la población, en cuanto a seguridad, eficacia y calidad de los medicamentos. Todo lo anterior se sustentó gracias al progreso tecnológico y al elevado énfasis en la investigación. Además esta modernización, generó la necesidad de armonizar los contenidos entre las distintas farmacopeas, sobre todo por la globalización, caracterizado por el tránsito internacional de materias primas, entre las que destacan plantas medicinales, con distinto origen e idiosincrasia molecular. Por tanto las farmacopeas forman parte de la historia de la ciencia y de la cultura, pues están relacionadas con la vida diaria, son parte esencial de la historia de la humanidad y sin ellas no se podría comprender bien la profesión farmacéutica, pues, si el núcleo de la misma es el medicamento, en dichos libros se reglamenta indirectamente este carácter profesional.

3. REFERENCIAS

1. Gaud R, Yeole P, Yavd A, Gokhale S. A text books of pharmaceutics. 10th ed. Shivaji Nagar: NiraliPrakashan 2008.
2. Prieto JM. La regulación global de los medicamentos herbarios. BLACPMA 2007; 6: 92-101.
3. Organización Mundial de la Salud (OMS). International Meeting World Pharmacopoeias. Disponible en: (www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/resources/InternationalMeetingWorldPharmacopoeias_QAS_13-512Rev1_25032013.pdf).
4. Belz S. Das Arzneibuch, Ein wichtiger Pfeiler der Arzneimittelsicherheit. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 2006; 49: 1205-11.
5. Urdang G. Evolución de las farmacopeas: Repaso con referencias especial a la Pharmacopea Internationalis. OSP 1952; 33: 538-64.
6. Lafont O. A stroll through the collections of pharmacopoeias of the order of pharmacist in París. Disponible en: (www.histpharm.org/ISHPWG%20France.pdf).
7. Rodríguez MA, García-Jiménez E, Rodríguez A, Pérez EM. Las farmacopeas españolas publicadas en los últimos 500 años (siglo XI-XXI). Farmacéuticos comunitarios 2012; 4: 176-181.
8. Marriott J, Wilson K, Langley C, Belcher D. Pharmaceutical compounding and dispensing. 2nd ed. London: Pharmaceutical Press 2010.
9. Vallejo JR, Cobos JM. El recetario de la Escuela de Salerno conocido como el "Antidotarium Nicolai". Medicina Naturista 2013; 7(1): 35-41.
10. Villano R. Pharmacopoeias from the Ducky of Naples to Kingdom of the Two Sicilies. Disponible en:

- <http://es.slideshare.net/raimondovillano5/raimondovillano-farmacopee-regno-na-en>.
11. Del Castillo B. De las Farmacopeas de ayer y de hoy. Academia de Farmacia “Reino de Aragón” 2014. Disponible en: [www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento72 .pdf](http://www.academiadefarmaciadearagon.es/docs/Documentos/Documento72.pdf)).
 12. González A. An account on the history of the Spanish pharmacopoeia. Disponible en : www.histpharm.org/ISHPWG%20Spain.pdf).
 13. Folch G. Las primeras farmacopeas españolas. Disponible en: [www.iris.paho.org/xmllui/bitstream/handle/123456789/11966/v35n6p710 .pdf?sequence=1](http://www.iris.paho.org/xmllui/bitstream/handle/123456789/11966/v35n6p710.pdf?sequence=1)).
 14. Lefont O. Medicines, apothecaries, and society, in latin countries. Disponible en: www.pharmaziegeschichte.at/ichp2009/penarvortraege/plenarvortraege_power_point_pdf/PPP_PL01.pdf).
 15. Ruiz M. Pesas y medidas en las farmacopeas españolas de los siglos XVIII al XXI. *Ars Pharm* 2010; Supl 3: 667-73.
 16. Dunlop D, Denston T. 1958. The history and development of the “British Pharmacopoeia”. *Br Med J* 1958; 12: 1250-2.
 17. The United States Pharmacopoeial Convention. *Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP)*. 38th ed. Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention 2015.
 18. The United States Pharmacopoeial Convention. USP’s global impact. Disponible en: www.usp.org).
 19. Schifer L. Las farmacopeas mexicanas en la construcción de la identidad nacional. *Rev Mex Cienc Farm* 2014; 2: 43-54.
 20. Secretaría de Salud Mexicana. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. 10th ed. Colonia Tabacalera: Publicaciones e impresiones de calidad, S.A 2013.
 21. Traditional Medicine in the Islands (TRAMIL). *Farmacopea Vegetal del Caribeña*. Disponible en: www.cicy.mx).
 22. Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare of the Council of Europe (EDQM). *European Pharmacopoeia (Ph. Eur)*. 6th ed. Strasbourg: Council of Europe 2008.
 23. Organización Mundial de la Salud. The international Pharmacopoeia. WHO drug information. 2013; 27: 119- 28.
 24. Council of Europe. Convention on the elaboration of a European Pharmacopoeia. Strasbourg, Francia. Disponible en: www.edqm.eu).
 25. Cañigueral S. Las monografías de calidad, seguridad y eficacia en el uso racional de los preparados a base de plantas medicinales. *Revista de fitoterapia* 2006; 6(S1): 25-9.
 26. Cooper E y Yamaguchi N. Complementary and alternative approaches to biomedicine. 5th ed. New York: Springer Science+Business Media 2013.
 27. Organización Mundial de la Salud (OMS). *Farmacopea Internacional*. 3th ed. Vol 5. Genève: Organización Mundial de la Salud 2003.
 28. Lazotre PL. International cooperation, convergence, and harmonization of pharmaceutical regulations. 1st ed. Oxford: Elsevier 2014.
 29. Organización Mundial de la Salud. The International Pharmacopoeia. Disponible en: apps.who.int).
 30. Das E. History and status of homeopathy around the world. 1st ed. New Delhi: B. Jain Publishers Ltd 2005.
 31. Pharmaceutical and Medical Devices Agency. The Japanese Pharmacopoeia. 16th ed. Tokio: The Ministry of Health Labour and Welfare 2011.
 32. Ravishankar B y Shukla VJ. Indian systems of medicine: a brief profile. *Afr J Trad* 2007; 4: 319-37.
 33. Parasuraman S, Thing GS y Dhanaraj SA. Polyherbal formulation: Concept of ayurveda. *Phcog Rev* 2014; 8: 73-80.
 34. Chandra L. Scientific basis for Ayurvedic therapies. 1st ed. Danvers: CRC PRESS 2004.
 35. Kumar S. Herbal Pharmacopoeias- as overview of international and Indian representation. *J Ayu Herb Med* 2015; 1: 59-60.
 36. Mukherjee P. Evidence-based validation of herbal medicine. 1st ed. Oxford: Elsevier 2015.
 37. Saxer M. Manufacturing Tibetan medicine. 1st ed. USA: British library 2013.
 38. Chinese Pharmacopoeia Commision. *Pharmacopea China*. Disponible en: www.wp.chp.org).
 39. Salvatierra A. La clasificación y el control de calidad. 1st ed. Santiago: Jurídica de Chile 1966.
 40. Asociación Chilena de Química y Farmacia. *Farmacopea Chilena*. 3th ed. Santiago: Nacimiento 1941.
 41. *Farmacopea Chilena y la Universidad de Valparaíso*. La *Farmacopea Chilena*. Disponible en: www.farmacopea.cl).
 42. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA). *Farmacopea Brasileña*. 4th ed. Rio de Janeiro: Fiocruz 2010.
 43. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). *Farmacopea Argentina*. 7th ed. Buenos Aires: Imprenta de la Nación 2003.
 44. Facultad de Ciencias Exactas. Importante encuentro de la *Farmacopea Mercosur*. Disponible en : www.exactas.unlp.edu.ar).
 45. Programa Iberoamericano. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Disponible en: www.cytmed.org).
 46. Misiuk W. The role of assay methods in characterizing the quality of bulk pharmaceuticals. *J Pharm Bioall Sci* 2010; 2: 88-92.
 47. Secretaria de Salud Mexicana. *Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos*. 1st ed. Colonia Tabacalera: Publicaciones e impresiones de calidad, S.A 2001.
 48. Ministerio de Sanidad y Consumo. *Real Farmacopea Española*. 3th ed. Madrid: Imprenta nacional del Boletín Oficial del Estado 2005.
 49. Bandoni A. Evaluación farmacopeica de la calidad de

- drogas vegetales y productos relacionados. Estado actual en las farmacopeas argentina y brasilera. *Dominguezia* 2011; 27: 35-56.
50. Li S, Han Q, Qiao C, Song J, Lung C, Xu H. Chemical markers for the quality control of herbal medicines: an overview. *Chinese Medicine* 2008; 3: 7-23.
51. Kunle OF, Egharevba HO, Ahmadu PO. Standardization of herbal medicines- A review. *Int J Biodivers Conserv* 2012; 4: 101-12.
52. Shikov AN, Pozharitskaya ON, Makarov VG, Wagner H, Verpoorte R, Heinrich M. Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications. *J Ethnopharmacol* 2014; 154: 481-536.
53. Schmidt B, Ribnicky DM, Poulev A, Logendra S, Cefalu WT, Raskin I. A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism* 2008; 57(S): S3-9.
54. De Vos P. European materia médica in historical texts: Longevity of a tradition and implications for future use. *J Ethnopharmacol* 2010; 132: 25-47.
55. Wang M, Franz G. The role of the European Pharmacopoeia (PhEur) in quality control of traditional Chinese herbal medicine in European member states. *WJTCM* 2015; 1: 1-11.
56. Upton R, Graff A, Jolliffe G, Langer R y Williamson E. *Microscopic characterization of botanical medicines*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press 2011.
57. Tao L, Zhu F, Qin C, Zhang C, Xu F, Tan C, Jiang Y, Chen Y. Nature's contribution to today's pharmacopoeia. *Nat Biotechnol* 2014; 32: 979-80.
58. Burke PA, Putney SD. Improving protein therapeutics: the evolution of the modern pharmacopoeia. In: Buckle P, Ed. *Recombinant protein drugs*. Berlin: Birkhauser 2001; pp. 151-69.
59. Overington JP, Al-Lazikani B, Hopkins A. How many drugs targets are there? *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 993-6.

ANEXO

Alcance	Nombre de la Farmacopea
Organización Mundial de la Salud	Farmacopea Internacional
Regional	Europa
Unión Europea	Farmacopea Europea
Nacional	Europa
Alemania	Farmacopea Alemana/Farmacopea homeopática
Croacia	Farmacopea Croata
España	Real Farmacopea Española
Finlandia	Farmacopea Europea
Francia	Farmacopea francesa
Gran Bretaña	Farmacopea Británica
Portugal	Farmacopea Portuguesa
Republica Checa	Farmacopea Checa
Serbia	Farmacopea Yugoslava
Suecia	Farmacopea Europea
Suiza	Farmacopea Helvética
Nacional	Europa del Este
Rusia	Farmacopea del Estado de la Federación Rusa
Ucrania	Farmacopea del Estado de Ucrania
Nacional	Asia
China	Farmacopea de la Republica Popular China
Corea	Farmacopea Coreana
Japón	Farmacopea Japonesa
India	Farmacopea de la India/Farmacopea Ayurvédica
Nacional	América
Estados Unidos	Farmacopea de los Estados Unidos/ Farmacopea Herbolaria Americana
Argentina	Farmacopea Argentina
Brasil	Farmacopea Brasileira/ Farmacopea Homeopática
Chile	Farmacopea Chilena
México	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos/ Farmacopea Herbolaria/ Farmacopea Homeopática



Multifactorial role of flavonoids in prevention and treatment of various cancers

Title in Spanish: *Papel multifactorial de los flavonoides en la prevención y tratamiento de algunos cánceres*

Adeeb Shehzad¹, Muhammad Nabeel Anwar¹, Hira Zahid¹, Vijaya Ravinayagam², Hamad S Al-Rumaih³, Fadwa Al-Khulaifi⁴, Haya Al-Boijjan⁴, Ebtesam A Al-Suhaimi*⁴

¹Department of Biomedical Engineering and Sciences, School of Mechanical and Manufacturing Engineering (SMME), National University of Sciences and Technology (NUST), H-12 Islamabad, Pakistan. ²Deanship of Scientific Research & Institute for Research and Medical Consultations, University Of Dammam, Dammam, Saudi Arabia. ³Department of Prosthodontics, College of Dentistry, University of Dammam, Dammam, Saudi Arabia. ⁴Department of Biology, College of Science, University Of Dammam, Dammam, Saudi Arabia.

ABSTRACT: Bioactive compounds isolated from plants have gained a lot of attention in recent years. Among them flavonoids, which consist of a large group of polyphenolic compounds, are at the forefront in the treatment of various diseases including cancer. Flavonoids possess anti-cancer properties and they exert their curative effect by modulating different cell-signalling pathways like the Nf-kB pathway, PI3K/AKT/mTOR pathway and the JAK/STAT pathway. Flavonoids also possess anti-oxidant activity and they regulate the redox status and prevent damage caused by oxidative stress. Chemokines and cytokines play a key role in mediating the inflammatory response in a cell. Consequently, more inflammatory markers are recruited to the site of inflammation that leads to increased ROS and cause damage at the site of accumulation. The present review covers the recent studies, *in vitro* and *in vivo*, that highlight the promising potential of flavonoids in treating cancer.

RESUMEN: Los compuestos bioactivos aislados de las plantas han ganado mucha atención en los últimos años. Entre ellos los flavonoides, que consisten en un gran grupo de compuestos polifenólicos, están en la vanguardia del tratamiento de diversas enfermedades incluyendo el cáncer. Los flavonoides poseen propiedades anticancerígenas y ejercen su efecto curativo mediante la modulación de diferentes vías de señalización intracelular como la vía Nf-kB, PI3K / AKT / mTOR y la vía JAK / STAT. Los flavonoides también poseen actividad antioxidante regulando el estado redox y previniendo los daños causados por el estrés oxidativo. Las quimiocinas y citocinas juegan un papel clave en la mediación de la respuesta inflamatoria en las células. Por lo tanto, el aumento de los marcadores inflamatorios que son reclutados en el sitio de inflamación conduce a un aumento de las especies reactivas del oxígeno causando daños en el lugar de su acumulación. La presente revisión abarca los estudios más recientes, tanto *in vitro* como *in vivo*, en donde se destaca el potencial que presentan los flavonoides en el tratamiento del cáncer.

*Corresponding Author: ealsuhaimi@uod.edu.sa

Received: June 16, 2016 Accepted: September 28, 2016

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 297-302

Language of Manuscript: English

1. INTRODUCTION

The beneficial effects of food have been known from ancient times and have been applied in treating various human diseases. Various phytochemical substances in the functional food have antioxidant properties. Phytochemicals can modulate different signal transduction pathways and play a key role in treatment of cancer. The phytochemicals studies about citrus fruits have shown to contain most of the flavonoids (1, 2). These flavonoids mediate important physiological functions and are commercially very important in nutrients and pharmacy companies owing to broad therapeutic applications (3, 4). The equilibrium between cell growth and death is very important for the development and maintenance of normal

body functions in multicellular organisms (5). The process of cell death helps repair damaged tissue and eliminate harmful cells (6). Altered signaling can lead to an imbalance in cellular functions which may lead to pathological disorders such as embryogenesis, neurological diseases and cancer.

Normal cells are stimulated by carcinogen and leads to mutation. Subsequently inhibit the function of tumor suppressor gene and stimulate oncogene. This cause uncontrolled growth of the cell known as carcinogenesis (5). In carcinogenesis, formation of new blood vessels is a key step to provide nutrients and oxygen supply to cancer cells. Tumor cells can invade and spread throughout the body through blood and lymph vessels (6).

Flavonoids are polyphenolic compounds with powerful and strong antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activity. Citrus flavonoids mainly influence blood and microvascular endothelial cells by blocking regulatory enzymes, which mediate cell division and activation (7). The polyphenolic content of citrus fruit was reported to consist 81-97 % flavanones, while the remaining accounted for flavones, flavonols, hydroxycinnamic acids and coumarins (8). Despite being under investigation for long time, the mechanisms underlying the biological action of these compounds are not yet completely understood (9).

Flavonoids having various pharmacological activities are attributed by inhibiting action of enzymes in cellular stimulation. The *in vitro* elucidation shows that flavonoids alter enzymes status such as lipooxygenases, kinases, phospholipases, ATPase, cyclooxygenases, and phosphodiesterases (10, 11, 12). Furthermore, flavonoids tend to react and bind with nucleotide regulatory enzymes (7). Citrus flavonoids also actively scavenge the free radicals and, therefore, show antagonist effect on aging and degenerative events mediated by oxidative stress (13). The prime focus of this review narrates the mechanistic action of flavonoids and discusses their biological activity in regards to modulating key regulatory enzymes, signaling cascades etc. to facilitate the treatment of cancer.

2. CHEMICAL COMPOSITION OF FLAVONOIDS

A number of phytochemical compounds have been identified as flavanoids amongst which polyphenolic terpenoids have been studied most extensively. They have a characteristic structure C6-C3-C6 structure. Majority of flavonoids are formed by a combination of hydroxyl, methoxy, and O-glycoside groups that are attached to this C3-C6-C3 structure (14). Flavonoids are further divided into flavones, flavonols, flavanones, flavanols, anthocyanins and isoflavones. The different classes occur due to a difference in the C3 element of the flavonoid structure (14).

Flavonoids are considered as hydroxylated phenolic compounds that are produced as a result of a microbial infection in plants. Their characteristic 15 carbon structure (C6-C3-C6) includes two benzene rings commonly referred to as A and B rings. The A and B rings are joined together by a heterocyclic pyrane ring referred to as the C ring. The different classes of flavonoids occur because of different levels of oxidation and because of substitutions at the C ring. Different compounds within each class exist because of substitutions at the two benzene rings.

Flavonoids occur in three forms, either as aglycones (aglycosides) and glycosides or sometimes as methylated derivatives. The basic structure mentioned above (i.e C6-C3-C6) is the aglycone structure (15). Aglycosides (without sugar) or glycosides (containing sugar) are two main forms of citrus flavonoids. Glycosides contain single or multiple sugars attached to the basic flavonoid skeleton (9).

3. BIOLOGICAL ACTIVITY OF FLAVONOIDS

3.1. Anti-inflammatory effects

Inflammation is a physiological response that is brought on by different circumstances such as infection or tissue injury. Studies have revealed that an array of responses triggered by the immune system leads to inflammation (16). There is increased level of inflammatory markers, free radicals lipid peroxides whenever there is incidence of inflammation. This is due to the fact that inflammation disturbs signaling pathways. There is also evidence suggesting that inflammation plays a key role in healing wounds and fighting infections. However, if inflammation persists for longer periods of time it stimulates progression of many chronic diseases including cancer (16, 17).

The events that occur during inflammation include the recruitment of leukocytes and mast cells. This leads to what is known as a 'respiratory burst'. There is an increased level of oxygen uptake at the site of damage and hence an increase in the reactive oxygen species (18).

Inflammatory calls also produce some mediators like cytokines and chemokines. These molecules act by recruiting more inflammatory cells to the site of damage thereby increasing the number of ROS. These are the key mediators involved in inflammation and include other molecules such as metabolites of arachidonic acid. Together they are capable of activating signal cascades and inducing changes in transcription factors. The transcription factors include NF- κ B, HIF1- α , AP-1, NFAT and Nrf2. Other factors apart from chemokines and cytokines mediate the inflammatory response, these include COX-2, iNOS, differential expression of certain micro RNAs. All these contribute to an increase in the oxidative stress (19). When this state of increased ROS and oxidative stress persists it leads to the disruption of healthy surrounding cells and tissue and therefore leads to the incidence of cancer (20).

3.1.1. *In vitro* studies

Daphne genkwa also known as D.genkwa is a medicinal plant that has a large number of flavonoids associated with anti-inflammatory response. In a study conducted on HT-29 and SW-480 human colorectal cancer cells, it was concluded that flavonoids found in D.genkwa have an ability to regulate the immune system by inhibiting the production of inflammatory cytokines (21).

in vitro studies have determined that flavonoids are capable of inhibiting the synthesis and activity of a variety of pro-inflammatory mediators such as cytokines, adhesion molecules, eicosanoids etc. Molecular mechanism includes the inhibition of various transcription factors such as the NF-kappaB, AP-1 and stimulation of Nrf2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2) (22). In a study conducted by Zhang et al (2014), it was determined that apigenin, which is a non-toxic natural flavonoid has the potential to inhibit lipopolysaccharide induced inflammation through multiple mechanisms. Macrophages were utilized and it was seen that apigenin inhibited LPS induced production of

cytokines such as IL-6, IL-1B and TNF- α . The production of IL-1B was inhibited by inhibition of caspase-1 through disruption of NLRP3 inflammasome assembly. mRNA stability was also reduced due to inhibition of ERK $\frac{1}{2}$ activation (23). The phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) family of signaling enzymes likely plays a key role in inflammation. The PI3k signaling cascade is involved in leukocyte recruitment and activation and is therefore thought to be involved in inflammation. Apigenin has also been reported to hinder the PI3k/Akt pathway in cancer cell lines. The data from a recent study conducted on breast cancer cell lines concluded that flavones such as apigenin and luteolin induced apoptosis and cell cycle arrest. Hs578T, MDA-MB-231 and MCF-7 breast cancer cells were used. The underlying mechanism was determined to be the induction of forkhead box O3 (FOXO3a) expression. This subsequently elevated the expression of FOXO3a target genes, including the Cyclin-dependent kinase inhibitors p21(Cip1) (p21) and p27(kip1) (p27), which increased the levels of activated poly(ADP) polymerase (PARP) and cytochrome c (24). Kadioglu et al (2015) reported anti-inflammatory effect of the flavonoid kaempferol against Nf-kB pathway proteins. Nf-kB is an important factor in the proliferation, inflammation and carcinogenesis. Kaempferol belongs to the flavonol class of flavonoids and its major sources include onions, cherries, broccoli, kale etc (25).

A lot of flavonoids have been studied for their anti-inflammatory effects in *in vitro* studies but there is still lack of evidence with regards to *in vivo* studies. *in vitro* studies focus only on pure doses of flavonoids administered therefore we cannot be completely sure about their effects in humans. This is because humans intake flavonoids indirectly from plant foods and not in pure doses.

3.1.2. *In vivo* studies

A number of studies have been conducted in animal models. In a recent experiment conducted by Tao et al (2015), Lewis-bearing C57BL/6 mice model was established and tumor growth was induced. Immunomodulatory factors were detected that confirmed the therapeutic effect of flavonoids present in *Scutellaria barbata* D. Don (SB). It was established that SB could inhibit tumor growth *in vivo* by regulating the immune system (26). Many flavonoids are used in combination with other molecules and exert a synergistic effect by enhancing or modulating the activity of the molecule being used. Quercetin, a well known flavonoid has been used along with B-carotene in order to modulate the activity of B-carotene against NF-kB induced inflammation in Mongolian gerbils (27). In another study, tricetin, a flavonoid extracted from rice prevented the activation of the NF-kB and the JAK/STAT pathway *in vivo*. Activation of both STAT1 and STAT3 was inhibited via downregulation of JAK1 and JAK2 (28).

3.2. Anti-cancer effects

Prevention of cancer has been linked with the intake of

a variety of plant foods. Wine drinkers are also considered at a lower risk of developing cancer than other people.

3.2.1. *In vitro* studies

Oncology reports published a study, Proanthocyanidins were investigated for their ability to stimulate programmed cell death in human gastric cell line. The findings from this study suggest the use of Proanthocyanidins with autophagy inhibitors to significantly increase the rate of apoptosis and induce cytotoxicity (29). In agreement with this study, inhibition of esophageal adenocarcinoma by cranberry derived Proanthocyanidins (C-PAC) was investigated. C-PAC induced caspase-independent cell death by inducing autophagy in acid-sensitive cell lines. A number of signaling pathways were also identified in other cell lines. In-activation of the PI3K/AKT/mTOR pathway, stimulation of pro-apoptotic proteins, modulation of MAPKs and G2-M cell cycle arrest were some of the key factors of action (30). Quercetin is a widely studied flavonoid attractive for its anti-cancer and anti-proliferative activities. *in vitro* studies have ascertained the anti-proliferative outcome of quercetin against human colon adenocarcinoma cells. The underlying mechanism was associated with a vital upsurge in the expression of the endocannabinoids receptor (CB1-R) following therapy with quercetin. This occurred because CB1-R is an estrogen responsive receptor and quercetin is similar in structure to estrogens so it interacts with CB1-R and regulates cell growth. To further clarify the underlying mechanism, principal molecular pathways were also investigated. Important survival signals like the PI3K/Akt/mTOR were inhibited, at the same time pro apoptotic JNK/JUN signaling pathways were induced. The metabolism of β -catenin was also modified. The interactive action of Quercetin with CB1-R was secured by means of anandamide (Met-F-AEA), a CB1-R agonist, SR141716, a CB1-R antagonist (31). A number of fruits have been considered as a valuable source of flavonoids and are recommended for the prevention of cancer. Yang S et al (2015) investigated the anticancer activities of flavonoids extracted from pink lady apples. The flavonoids were divided into two groups; peel-flavonoids and flesh-flavonoids. It was seen that the both type of flavonoids were capable of inhibiting cancer cell growth in a dose dependent manner (32).

3.2.2. *In vivo* studies

Many flavonoids have been subjected to studies based on animal models. *in vivo* studies reinforce the efficacy of the drug being used and its underlying mechanism of action. Toxicity studies can also be conducted on animal models before any drug is administered to human cohorts. A number of *in vivo* studies have been successfully conducted that highlight the anti-cancer activity of flavonoids. Bioactive proanthocyanidins decrease the accumulation of B-catenin and thereby inhibit growth in human melanoma cells. Dietary administration of grape seed proanthocyanidins (GSPs), suppressed the growth of nude mice melanoma tumor xenografts. Furthermore, xenograft growth was reduced in β -catenin-activated

Mel928 mice but remained unaffected in β -catenin-inactivated Mel1011 mice (33). Swiss albino mice were utilized in one study where the anti-proliferative potential of hesperetin (HSP) was investigated against benzo(a)pyrene induced lung carcinogenesis. Pre- and post-treatment with HSP alleviated Lipid peroxidation, increased the level of antioxidants and decreased the expression of NF- κ B, PCNA and CYP1A1 (34). Luteolin is a flavone that is found in a number of plant foods and is thought to possess anti-cancer activity. Cook *et al.* (2016) demonstrated the ability of luteolin to suppress progesterin-accelerated mammary tumors. Both low (1 mg/kg) and high (25 mg/kg) doses of luteolin considerably reduced progesterin-dependent upsurges in tumor prevalence, while increasing tumor inactivity and decreasing the incidence of large (>300 mm³) mammary tumors. Immuno histochemical examination of tumor tissues showed that at all concentrations levels of VEGF were considerably reduced within the tumors (35). Chromatin acetylation is linked with epigenetics that play a crucial role in how people respond to drugs with relevance to gene expression in normal and diseased conditions. Luteolin, a flavonol, was found to inhibit this acetylation. The underlying mechanism was determined to be the competitive binding of luteolin to the acetyl CoA binding that inhibited p300 acetyltransferase. Effects of luteolin were seen at multiple levels i.e. at the level of gene expression as well as at the level of miRNA processing. Tumor model of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) was used. This xenografted model was treated with luteolin which led to a reduction in the size of the tumor within 4 weeks along with a decrease in the acetylation of histones (36).

3.3. Anti-oxidant effects

Anti-oxidants regulate the cellular levels of reactive oxygen species thereby preventing or reducing oxidative damage. Oxidative stress is the underlying cause for a number of diseases including cancer. Irregular levels of free radicals generated inside a cell can activate a number of signaling cascades that lead to cell-proliferation, cell cycle progression, inflammation and thus cancer. Flavonoids have been known to have anti-oxidant activity whereby they exert a protective effect on cells. A number of mechanisms are employed by flavonoids by which they reduce or prevent oxidative damage.

1. Direct scavenging of ROS.
2. Inhibition of superoxide anion production by inhibiting oxidases.
3. Activation of anti-oxidant enzymes.
4. Chelation of free metals; involved in oxygen metabolism.
5. Alleviation of oxidative stress caused by nitric oxide (37).

3.3.1. *In vitro* studies

In a recent study published in the journal of photochemistry and photobiology, anti-oxidant activity of extracts from *Galinsoga* species was determined. The anti-

oxidant activity was examined by determining the scavenging property of these species. ROS scavenging is one of the mechanisms by which flavanoids exert their anti-oxidant activity. This activity was determined against two radicals generated in cell-free systems; O₂⁻ and H₂O₂. It was seen that ethanolic extracts from the herb exerted cytotoxic effects while the aqueous extracts exerted protective effects by inhibiting ROS generation. The aqueous extracts can therefore be labeled as effective photoprotectors (38). In a similar study conducted by Sung *et al.* (2015), free-radical scavenging assays were used to determine the anti-oxidant activity of a perennial herb, *Humulus japonicas*. Extracts from this herb contain a number of bioactive compounds comprising luteolin, luteolin 7-glycoside, quercetin and quercitrin which effectively caused scavenging of ROS in *in vitro* and intracellular systems. Furthermore, experiments also demonstrated the upregulation of longevity-related proteins, sirtuin 1 and AMP-activated protein kinase. Thus it is safe to conclude that these flavanoids can be used as effective anti-aging and anti-oxidant compounds (39).

Ashraf *et al.* (2016), demonstrated the antioxidant activity of three extracts of *Psidium guajava* leaf; methanol, chloroform and hexane on three different cell lines (KBM5, SCC4 and U266). The hexane extract completely inhibited activation of TNF- α and Nf- κ B activation in KBM5 cells and hence had antitumor and cytotoxic activity. All the extracts had different phenolic and flavonoid contents (40).

3.3.2. *In vivo* studies

Animal models have also been used to further determine the protective activity of different flavonoids although present *in vivo* studies are very limited. *Wedelia chinensis* is a traditional herb known to have hepatoprotective properties. This herb was seen to have neuroprotective effects in mice models by inhibiting oxidative stress-induced damage. Extracts from this herb contain luteolin that has been shown to have anti-cancer properties in multiple studies (41).

Drug resistance during chemotherapy is one of the many hurdles that lead to poor prognosis in cancer patients. Isorhamnetin (IH), which is a metabolite of quercetin, was evaluated for its attenuating effect against chemoresistance. IH was administered along with capecitabine to enhance its efficacy in gastric cancer. Nude mice were used as tumor models. The results showed that IH enhanced the apoptotic effects of capecitabine and inhibited activation of the transcription factor Nf- κ B. Whether administered alone or together with capecitabine, it showed anti-tumor activity and negatively regulated Nf- κ B and various other oncogenic biomarkers (42).

4. CONCLUSION

Many plant-derived and natural products are being tested for their anti-cancer activities. Several of these agents are in clinical trials all over the world such as taxol, vinblastine, vincristine, etoposide etc (14). Other flavonoids that show great promise include quercetin,

hesperitin, luteolin, proanthocyanidins. Flavonoids exhibit anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-tumor, anti-angiogenesis activity. Flavonoids modulate the biological events in cancer progression by effecting different signaling cascades. They have been shown to inhibit several key transcriptional factors and are capable of inducing apoptosis and cell death. Quercetin, a well-studied flavonoid induced G2/M phase cell cycle halt and mitochondrial programed cell death through a P-53 dependent mechanism in HeLa cells (human cervical cancer cells) (43).

Further studies and biochemical tests should be carried out to validate the relationship between the structure and function of specific flavonoids. This validation is important if flavonoids are to be used commercially for the treatment of cancer. Moreover, the lack of epidemiological studies that focus on the intake of pure doses of flavonoids, is also a major area that lacks data.

5. REFERENCES

1. Yao LH, Jiang YM, Shi J, Tomás-Barberán FA, Datta N, Singanusong R, Chen SS. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum Nutr.* 2004; 59: 113–122.
2. Hodek P, Trefil P, Stiborová M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem Biol Interact.* 2002; 139: 1–21.
3. Marín FR, Soler-Rivas C, Benavente-García O, Castillo J, Pérez-Alvarez JA. By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chem.* 2007; 100: 736–741.
4. Del Río JA, Fuster MD, Gómez P, Porras I, García-Lidón A, Ortuño A. Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chem.* 2004; 84: 457–461.
5. Bröker LE, Kruyt FAE, Giaccone G. Cell death independent of caspases: a review. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 3155–3162.
6. Hanahan D, Folkman J. 1996. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353–364.
7. Manthey JA, Grohmann K, Guthrie N. Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Curr. Med. Chem.* 2001; 8: 135–153.
8. Abad-García B, Garmón-Lobato S, Sánchez-Ilárduya MB, Berrueta LA, Gallo B, Vicente F, Rosa Maria AS. Polyphenolic contents in Citrus fruit juices: authenticity assessment. *European Food Research and Technol.* 2014; 238: 803–818.
9. Depeint F, Gee JM, Williamson G, Johnson IT. Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities. *Proc. Nutr. Soc.* 2002; 61: 97–103.
10. Yáñez J, Vicente V, Alcaraz M, Castillo J, Benavente-García O, Canteras M, Teruel JA. Cytotoxicity and antiproliferative activities of several phenolic compounds against three melanocytes cell lines: relationship between structure and activity. *Nutr. Cancer* 2004; 49: 191–199.
11. Rodriguez J, Yáñez J, Vicente V, Alcaraz M, Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, Lozano JA. Effects of several flavonoids on the growth of B16F10 and SK-MEL-1 melanoma cell lines: relationship between structure and activity. *Melanoma Res.* 2002; 12: 99–107.
12. Martínez C, Yáñez J, Vicente V, Alcaraz M, Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, Lozano JA. Effects of several polyhydroxylated flavonoids on the growth of B16F10 melanoma and Melan-a melanocyte cell lines: influence of the sequential oxidation state of the flavonoid skeleton. *Melanoma Res.* 2003; 13: 3–9.
13. Benavente-García O, Castillo J, Marin FR, Ortuño A, Del Río JA. Uses and Properties of Citrus Flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 1997; 45: 4505–4515.
14. Batra P, Sharma AK. Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *3 Biotech.* 2013; 3: 439–459.
15. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal* 2013; 2013: 162750.
16. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008; 454: 428–435.
17. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 2008; 9: 46–56.
18. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860–867.
19. Hussain SP, Harris CC. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *Int. J. Cancer* 2007; 121: 2373–2380.
20. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int. J. Cancer* 2007; 121: 2381–2386.
21. Du WJ, Yang XL, Song ZJ, Wang JY, Zhang WJ, He X, Zhang RQ, Zhang CF, Li F, Yu CH, Wang CZ, Yuan CS. Antitumor Activity of Total Flavonoids from *Daphne genkwa* in Colorectal Cancer. *Phytother Res.* 2016; 30: 323–330.
22. Serafini M, Peluso I, Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proc. Nutr. Soc.* 2010; 69: 273–278.
23. Zhang X, Wang G, Gurley EC, Zhou H. Flavonoid apigenin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through multiple mechanisms in macrophages. *PLoS One* 2014; 9: e107072.
24. Lin CH, Chang CY, Lee KR, Lin HJ, Chen TH, Wan L. Flavones inhibit breast cancer proliferation through the Akt/FOXO3a signaling pathway. *BMC Cancer* 2015; 15: 958.
25. Kadioglu O, Nass J, Saeed MEM, Schuler B, Efferth T. Kaempferol Is an Anti-Inflammatory Compound with Activity towards NF-κB Pathway Proteins. *Anticancer Res.* 2015; 35: 2645–2650.

26. Gong T, Wang CF, Yuan JR, Li Y, Gu JF, Zhao BJ, Zhang L, Jia XB, Feng L, Liu SL. Inhibition of Tumor Growth and Immunomodulatory Effects of Flavonoids and Scutebarbatines of *Scutellaria barbata* D. Don in Lewis-Bearing C57BL/6 Mice. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2015; 2015: 630760.
27. Wu TC, Huang SY, Chan ST, Liao JW, Yeh SL. Combination of β -carotene and quercetin against benzo[a]pyrene-induced pro-inflammatory reaction accompanied by the regulation of antioxidant enzyme activity and NF- κ B translocation in Mongolian gerbils. *Eur. J. Nutr.* 2015; 54: 397–406.
28. Shalini V, Jayalekshmi A, Helen A. Mechanism of anti-inflammatory effect of tricrin, a flavonoid isolated from Njavara rice bran in LPS induced hPBMCs and carrageenan induced rats. *Mol Immunol.* 2015; 66: 229–239.
29. Nie C, Zhou J, Qin X, Shi X, Zeng Q, Liu J, Yan S, Zhang L. Reduction of apoptosis by proanthocyanidin-induced autophagy in the human gastric cancer cell line MGC-803. *Oncol. Rep.* 2016; 35: 649–658.
30. Kresty LA, Weh KM, Zeyzus-Johns B, Perez LN, Howell AB. Cranberry proanthocyanidins inhibit esophageal adenocarcinoma *in vitro* and *in vivo* through pleiotropic cell death induction and PI3K/AKT/mTOR inactivation. *Oncotarget*, 2015; 6: 33438–33455.
31. Refolo MG, D'Alessandro R, Malerba N, Laezza C, Bifulco M, Messa C, Caruso MG, Notarnicola M, Tutino V. Anti Proliferative and Pro Apoptotic Effects of Flavonoid Quercetin Are Mediated by CB1 Receptor in Human Colon Cancer Cell Lines. *J. Cell Physiol.* 2015; 230: 2973–2980.
32. Yang S, Zhang H, Yang X, Zhu Y, Zhang M. Evaluation of antioxidative and antitumor activities of extracted flavonoids from Pink Lady apples in human colon and breast cancer cell lines. *Food Funct.* 2015; 6: 3789–3798.
33. Vaid M, Singh T, Prasad R, Katiyar SK. Bioactive proanthocyanidins inhibit growth and induce apoptosis in human melanoma cells by decreasing the accumulation of β -catenin. *Int. J. Oncol.* 2016; 48: 624–634.
34. Bodduluru LN, Kasala ER, Barua CC, Karnam KC, Dahiya V, Ellutla M. Antiproliferative and antioxidant potential of hesperetin against benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. *Chem. Biol. Interact.* 2015; 242: 345–352.
35. Cook MT, Mafuvadze B, Besch-Williford C, Eilersieck MR, Goyette S, Hyder SM. Luteolin suppresses development of medroxyprogesterone acetate-accelerated 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in Sprague-Dawley rats. *Oncol. Rep.* 2016; 35: 825–832.
36. Selvi RB, Swaminathan A, Chatterjee S, Shanmugam MK, Li F, Ramakrishnan GB, Siveen KS, Chinnathambi A, Zayed ME, Alharbi SA, Basha J, Bhat A, Vasudevan M, Dharmarajan A, Sethi G, Kundu TK. Inhibition of p300 lysine acetyltransferase activity by luteolin reduces tumor growth in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) xenograft mouse model. *Oncotarget* 2015; 6: 43806–43818.
37. Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HMI. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *Int. J. Biochem Cell Biol.* 2013; 45: 2821–2831.
38. Bazylko A, Borzym J, Parzonko A. Determination of *in vitro* antioxidant and UV-protecting activity of aqueous and ethanolic extracts from *Galinsoga parviflora* and *Galinsoga quadriradiata* herb. *J. Photochem. Photobiol. B* 2015; 149: 189–195.
39. Sung B, Chung JW, Bae HR, Choi S, Kim CM, Kim ND. *Humulus japonicus* extract exhibits antioxidative and anti-aging effects via modulation of the AMPK-SIRT1 pathway. *Exp. Ther. Med.* 2015; 9: 1819–1826.
40. Ashraf A, Sarfraz RA, Rashid MA, Mahmood A, Shahid M, Noor N. Chemical composition, antioxidant, antitumor, anticancer and cytotoxic effects of *Psidium guajava* leaf extracts. *Pharm. Biol.* 2016; 3: 1–11.
41. Manu KA, Shanmugam MK, Ramachandran L, Li F, Siveen KS, Chinnathambi A, Zayed ME, Alharbi SA, Arfuso F, Kumar AP, Ahn KS, Sethi G. Isorhamnetin augments the anti-tumor effect of capecitabine through the negative regulation of NF- κ B signaling cascade in gastric cancer. *Cancer Lett.* 2015; 363: 28–36.
42. Lin WL, Wang SM, Ho YJ, Kuo HC, Lee YJ, Tseng, TH. Ethyl acetate extract of *Wedelia chinensis* inhibits tert-butyl hydroperoxide-induced damage in PC12 cells and D-galactose-induced neuronal cell loss in mice. *BMC Complement Altern. Med.* 2014; 14: 491.
43. Vidya PR, Senthil MR, Maitreyi S, Ramalingam K, Karunakaran D, Nagini S. The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF- κ B inhibition. *Eur. J. Pharmacol.* 2010; 649: 84–91.



Obesity: a risk for Alzheimer's disease? I. Common molecular mechanisms

Title in Spanish: *Obesidad: ¿un riesgo para la enfermedad de Alzheimer? I. Mecanismos moleculares comunes*

Arantxa Rodríguez-Casado^{1*}, Adolfo Toledano-Díaz², Adolfo Toledano^{1,3}

¹Instituto Cajal, CSIC Madrid, España. ²Departamento de Reproducción, INIA Madrid, España. ³Académico correspondiente RANF.

ABSTRACT: Obesity is a recognized risk factor for cardiovascular diseases and the main responsible for the resistance to the action of insulin, a state that precedes the development of diabetes type 2. In the last years, researches have demonstrated that there are also common molecular mechanisms between obesity and Alzheimer's disease, to be the more likely pathological link a state of insulin resistance, which is mediated by inflammation. If the brain dysfunction in Alzheimer's effectively shares underlying mechanisms with obesity, certain intracellular signaling molecules might be involved in both diseases. Identification of these molecules and their consideration as therapeutic targets would represent a breakthrough in the understanding of the mechanisms of these diseases, and an excellent strategy in the development of new therapies for both pathologic conditions. In this work the last hypothesis linking obesity with Alzheimer's disease are reviewed. Adipose tissue dysfunction and consequent accumulation of ectopic fat as a cause of inflammation and insulin resistance systemic conditions obesity characteristics are described. It also highlights these peripheral systemic pathological states as primarily responsible for neuroinflammation and insulin resistance in the brain that would lead to the neuronal dysfunction and cognitive impairment found in Alzheimer's disease.

RESUMEN: La obesidad es un factor de riesgo reconocido para las enfermedades cardiovasculares y el principal responsable de la resistencia a la acción de la insulina, estado que precede al desarrollo de diabetes de tipo 2. En los últimos años, las investigaciones han demostrado que existen además mecanismos moleculares comunes entre la obesidad y la enfermedad de Alzheimer, siendo el vínculo patológico más probable un estado de resistencia a la insulina que es mediado por inflamación. Si la disfunción cerebral en el Alzheimer efectivamente comparte mecanismos subyacentes con la obesidad, ciertas moléculas de señalización intracelular podrían estar involucradas en ambas enfermedades. La identificación de estas moléculas y su consideración como dianas terapéuticas supondrían un gran avance en el conocimiento de los mecanismos de estas enfermedades, y una buena estrategia en el desarrollo de nuevas terapias para ambos trastornos. En este trabajo se revisan las últimas hipótesis que vinculan la obesidad con Alzheimer. Se describe la disfunción del tejido adiposo y su consecuente acumulación de grasa ectópica como origen de estados sistémicos de inflamación y de resistencia a la insulina, característicos de la obesidad. Asimismo, se destacan estos estados sistémicos patológicos periféricos como principales responsables de estados de neuroinflamación y de resistencia a la insulina en el cerebro que conllevarían al deterioro cognitivo y disfunción neuronal encontrados en la enfermedad de Alzheimer.

*Corresponding Author: arantxa.rodriguezcasado@gmail.com An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 303-316

Received: October 20, 2016 Accepted: November 7, 2016

v Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

Existe una estrecha relación entre la obesidad y la enfermedad de Alzheimer (EA) mediada por la resistencia a la acción de la insulina (RAI). La mayoría de los estudios epidemiológicos se confirman que entre los enfermos de diabetes de tipo 2 (DT2) inducida por obesidad existe una mayor incidencia de EA, así como en los enfermos de EA existe una mayor incidencia de DT2 (1, 2). Sin embargo, no todos los casos de DT2 encaminan a la EA y no todos

los pacientes de Alzheimer desarrollan DT2. Lo más probable es que ambos trastornos sean el resultado de los mismos desequilibrios metabólicos subyacentes pero manifestados de forma diferente dependiendo del órgano afectado. Algunos autores consideran la EA como una forma específica de diabetes en la una deficiencia de insulina así como un mecanismo de resistencia a su acción tiene sus efectos limitados al cerebro (3, 4). Entender el Alzheimer como una diabetes restringida al cerebro ha

llevado a denominarlo como *diabetes de tipo 3* (2, 5). En la presente monografía se aborda esta problemática que va a dividirse en dos partes. En esta primera se van a analizar los mecanismos celulares y moleculares, y la posibles dianas moleculares que sugieren que la EA es una forma específica de diabetes cerebral, en la que la deficiencia de insulina es un factor mediador determinante de procesos que da lugar al deterioro cognitivo y la neurodegeneración. En la segunda parte se tratarán las posibles terapias farmacológicas y no farmacológicas que puedan ser de aplicación para el tratamiento y/o prevención de esta patología considerando su posible denominador común con la obesidad. Debido a que no existe cura para la EA y los fármacos actuales reducen los síntomas pero no detienen el progreso de esta enfermedad, la relación de la obesidad con la EA abre múltiples opciones al desarrollo de métodos de diagnóstico tempranos no invasivos y nuevas estrategias terapéuticas para regular la RAI, disminuir la acumulación y precipitación anormal de péptido beta amiloide (β A) en el cerebro y el deterioro cognitivo asociado con el Alzheimer.

2. OBESIDAD Y SUS CONSECUENCIAS METABÓLICAS

La obesidad es un factor de riesgo reconocido para las enfermedades cardiovasculares (ECV) y la DT2 (6-9). En los últimos años, la obesidad se ha vinculado además a la enfermedad de Alzheimer, la causa más común de demencia irreversible en la edad senil (2, 10-13). Ciertos estudios señalan que existen mecanismos moleculares comunes entre la obesidad y la EA siendo el vínculo patológico más probable un estado de RAI mediado por inflamación (14-20). La RAI es una alteración metabólica en la que las células no reconocen a la insulina. Una célula

resistente a la insulina no admite glucosa en su interior por lo que el nivel de glucosa en sangre aumenta (hiperglucemia) que a su vez estimula la sobreproducción de insulina (hiperinsulinemia) en el páncreas que, con el tiempo, lleva al organismo a desarrollar una DT2 (6, 7).

En la Figura 1 se describe la relación de la obesidad con sus consecuencias metabólicas y su asociación con la enfermedad de Alzheimer. La obesidad se acompaña de una inflamación crónica de bajo grado que favorece la aparición de un estado de RAI periférico. El tejido adiposo (TA) obeso secreta mediadores proinflamatorios denominados adipocinas que, junto al exceso de ácidos grasos libres (AGLs) proporciona un entorno adecuado para el desarrollo de un estado de RAI. En estas condiciones la integridad de la barrera hematoencefálica (BHE) se pierde (21-23) lo que hace al cerebro vulnerable a desequilibrios del sistema inflamatorio periférico. Las adipocinas secretadas por el tejido adiposo tales como el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF-\alpha$) e interleucinas ($IL-1\beta$, $IL-6$) atraviesan la BHE activando la microglía residente del sistema nervioso central (SNC) e induciendo en el cerebro una respuesta local inflamatoria inicialmente protectora (24). La microgliosis y la sobreactivación microglial subsiguiente se hace deletérea induciendo la liberación de citoquinas (25, 26) perpetuando la inflamación cerebral (neuroinflamación). De hecho, la cantidad de microglía en cerebros enfermos de Alzheimer es mayor que en cerebros sanos. También se ha encontrado que, cuanto más avanzada está la enfermedad, más activas y numerosas son las moléculas que regulan la actividad de las células gliales. Se ha comprobado que el bloqueo de la neuroinflamación disminuye los problemas de memoria derivados de la EA y detiene su progresión (27).

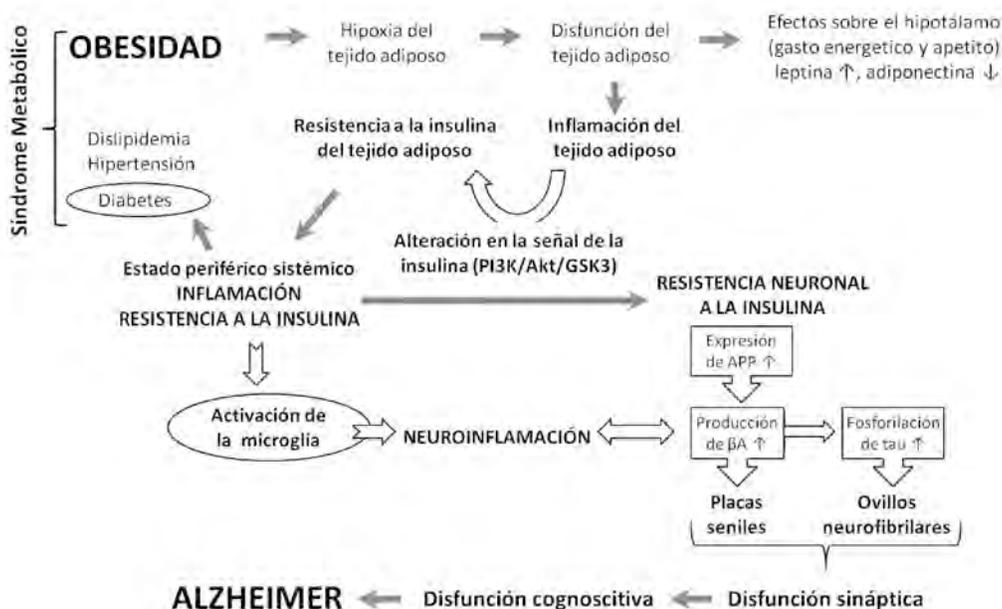


Figura 1. Esquema general de la relación entre la obesidad y sus consecuencias metabólicas con la enfermedad de Alzheimer [PI3K, fosfatidil-inositol 3-quinasa; Akt, proteína quinasa B (PKB); GSK3, proteína quinasa glucógeno sintasa; APP, proteína precursora de amiloide; β A, beta amiloide; Tau, proteína Tau].

El tejido adiposo expandido al límite es incapaz de seguir acumulando lípidos y, como resultado, los deriva como AGLs, hacia órganos (páncreas, hígado, músculo) no diseñados para el almacenamiento de grasas produciendo lipotoxicidad a nivel periférico y en el SNC. En el cerebro, un exceso de acúmulos de grasa produce toxicidad neuronal con efectos deletéreos por su potente componente oxidativo de grasas. Durante un envejecimiento normal los ácidos grasos se acumulan en el cerebro lentamente. Sin embargo, este proceso se acelera notablemente por desórdenes metabólicos ó en presencia de genes que predisponen a la EA. Estos depósitos de grasa (triglicéridos con ácidos grasos) anómalos, más que una consecuencia, se han descrito como un desencadenante de la enfermedad (28, 29). Además, el aumento de ácidos grasos intracelulares activa rutas metabólicas no oxidativas como la formación de ceramidas, degradación lisosomal y generación de estrés de retículo endoplasmático, que a su vez estimula señales asociadas a apoptosis, común en enfermedades relacionadas con la acumulación ectópica de ácidos grasos (7).

El exceso de AGLs interfiere la unión entre la insulina y su receptor interrumpiendo posteriores eventos de señalización. Ciertos estudios indican que la EA podría deberse a una señal defectuosa de insulina en el cerebro. Esta sería la base, para algunos autores de la denominación *diabetes de tipo 3* para la EA (30-33). Otros investigadores, sin embargo, consideran que un término más preciso para describir el estado del cerebro en la EA sería *síndrome de resistencia cerebral a la acción de la*

insulina (34-36).

La obesidad produce un estado sistémico de RAI periférico mediado a través de una acumulación de grasa ectópica y de una respuesta inmune pro-inflamatoria. La neurodegeneración se desencadenaría bien por un estado de RAI central causado por factores endógenos al SNC — genéticos, metabólicos y neurohormonales — o bien, a través de un proceso de inflamación que conecta la obesidad con Alzheimer y se efectúa vía hígado-cerebro por el que citoquinas proinflamatorias y lípidos tóxicos como las ceramidas originados en la periferia atraviesan la BHE causando un estado de RAI cerebral, estados de estrés oxidativo, neuroinflamación y muerte celular.

3. LA INSULINA Y SU SEÑALIZACIÓN: MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN DE LA SEÑAL

La insulina, secretada por las células beta del páncreas es regulada esencialmente por los niveles de glucosa. Su actividad comienza con la unión a un receptor de membrana, el receptor de insulina con actividad tirosin-kinasa por la que la insulina ejerce su función (Figura 2). Una vez que la insulina interacciona con su receptor, éste es activado mediante fosforilación de sus residuos de tirosina (Tyr). El receptor fosforilado (IRpTyr) se une al sustrato del receptor de insulina (IRS) que se activa por fosforilación de Tyr (IRSpTyr) y desencadena una secuencia de reacciones siguiendo dos cascadas de señalización (37, 38).

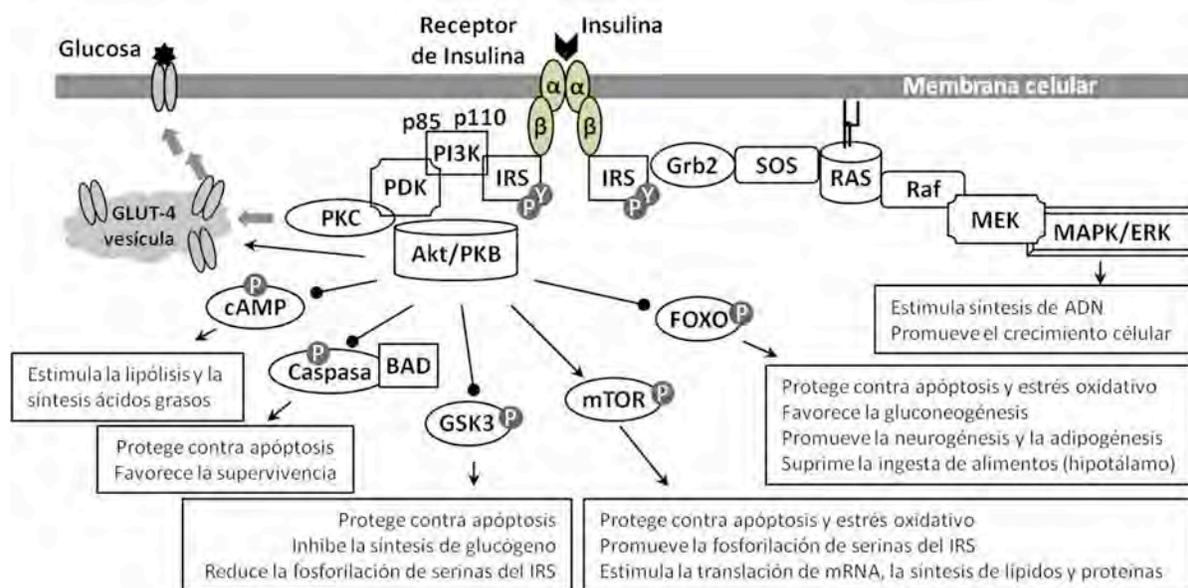


Figura 2. Rutas de señalización de la insulina y su significación biológica [IRS, sustrato del receptor de insulina; P/Y, fosforilación de tirosinas; PI3K, fosfatidil-inositol 3-kinasa; p110 dominio catalítico; p85 dominio regulador; PDK, proteína quinasa dependiente de fosfatidil-inositol trifosfato (PIP₃); PKB/Akt, proteína quinasa B; PKC, proteína quinasa serina-treonina C; cAMP, adenosín monofosfato cíclico; BAD y caspasa 9, proteínas apoptóticas; FOX, factor de transcripción forkhead box; NF-κβ, factor de transcripción nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células beta activadas; CREB, proteína de unión al elemento de respuesta activado por AMPc; HIF, factor inducible de hipoxia; GLUT-4, transportador de glucosa 4; GSK3, glucógeno sintasa quinasa-3; mTOR, proteína rapamicina en células de mamífero; Grb2/SOS, growth factor receptor binding protein 2/son-of-sevenless; Ras, proteína monomérica de la familia de las proteínas G; Raf-1, proteína serina/treonina quinasa; MEK, quinasa que fosforila y activa a MAPK; ERK proteínas kinasas reguladas por señal extracelular; MAPK, proteínas kinasas activadas por mitógenos].

3.1. Vía de señalización de fosfatidil-inositol 3-kinasa (PI3K) es el mecanismo por el que la insulina ejerce sus funciones e interviene en el paso de glucosa a las células, síntesis de glucógeno, lipogénesis, síntesis proteica e inhibición de la glucogenólisis y la lipólisis. La PI3K es una proteína transdutora de señal con dos subunidades — p110 (catalítica) y p85 (reguladora)— que produce el fosfatidil-inositol trifosfato (PIP3) que se fija a la membrana y activa la kinasa dependiente de PIP3 (PDK). A su vez, PIP3 activa la proteína kinasa B (PKB/Akt) y fosforila la proteína kinasa C (PKC) causando efectos metabólicos claves. Mediante la activación de PKB/Akt, PI3K regula la supervivencia y proliferación celular, la reorganización del citoesqueleto, apoptosis y el metabolismo de la glucosa. La PKB inhibe por fosforilación la actividad de dos proteínas apoptóticas - BAD y caspasa 9- promoviendo la supervivencia celular. La activación de PKB inhibe los factores de transcripción FOX (Forkhead box) activadores de procesos apoptóticos. Además, PKB activa los factores de transcripción NF- κ B (nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células beta activadas) y CREB (proteína de unión al elemento de respuesta activado por AMPc) y el factor inducible de hipoxia (HIF) lo que resulta en un incremento en la transcripción de genes anti-apoptóticos. La PKB/Akt regula la homeostasis de lípidos y carbohidratos; su activación mediante la participación de las proteínas kinasas serina-treonina (PKC), desencadena la translocación del transportador de glucosa GLUT-4 desde sitios intracelulares a la superficie celular lo que acelera la entrada de glucosa en las células donde se realiza la glucólisis para la obtención de energía y sustratos oxidables como acetil-coenzima A. Asimismo, la activación de PKB/Akt potencia la síntesis de glucógeno por fosforilación inhibitoria del glucógeno sintasa kinasa-3 (GSK-3) implicada en la homeostasis del glucógeno. Los ácidos grasos sintetizados en los hepatocitos son trasladados a los adipocitos. La proteína rapamicina en células de mamífero (mTOR) junto con otras proteínas y factores de inicio de la traducción activa la síntesis de proteínas a través de la vía PKB/Akt.

3.2. Vía de señalización de las proteínas kinasas activadas por mitógenos (MAPK) representa una vía que controla la transcripción de genes implicados en la regulación de la síntesis de proteínas y enzimas que principalmente van a regular el metabolismo. Las familias principales de MAPK son las proteínas kinasas reguladas por señal extracelular (ERK), las kinasas N-terminal c-Jun (JNK) y las proteínas del grupo p38. La ruta de señalización mediada por MAPK es activada por la unión del IRSp al dominio SH2 de la proteína ligadora del receptor del factor de crecimiento Grb2 (growth factor receptor binding protein 2) que una vez se une a una región rica en prolina de SOS (son-of-sevenless) formando el complejo Grb2/SOS que cataliza la sustitución del GDP unido por GTP en Ras (GTP-Ras). Ras, proteína monomérica de la familia de las proteínas G localizada en la membrana plasmática interviene en una amplia variedad de transducciones de señal; puede activar

la proteína kinasa Raf-1, que junto con MEK y ERK de la familia MAPK, forman una cascada de activación por fosforilación. Cuando ERK se activa, interviene en algunos de los efectos de la insulina al entrar en el núcleo y fosforilar proteínas tales como Elk1, que modula la transcripción de un centenar de genes regulados por insulina. La insulina también tiene efectos en la transcripción de genes, efectos que son primero mediados por la proteína SREBP como un aumento de la expresión de proteínas como glucocinasa, piruvato kinasa, lipoproteína lipasa (LPL), sintasa de ácidos grasos (FAS) y acetil-coenzima A carboxilasa (ACC) y disminución en la expresión de glucosa 6-fosfatasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa y fosfoenolpiruvato carboxinasa (PEPCK).

4. OBESIDAD: APUNTES FISIOLÓGICOS Y PATOGENICOS

4.1. Adipogénesis

El tejido adiposo tiene la capacidad de expandirse por hipertrofia —aumento en volumen de adipocitos existentes— y por hiperplasia —producción de nuevos adipocitos—, o contraerse para adaptarse a los diferentes estados nutricionales. Esta plasticidad y flexibilidad celular es determinante en disfunciones metabólicas por lo que la regulación de adipocitos maduros, en crecimiento y funcionalidad, representa un factor clave en la prevención de procesos de obesidad.

La adipogénesis es el proceso de diferenciación de células mesenquimales pluripotentes (MSCs) en adipocitos maduros con dos etapas: la determinación de MSCs para diferenciarse en preadipocitos regulada por señales aún no identificadas y la diferenciación, inducida por agentes adipogénicos como insulina y otros factores reguladores que coordinan múltiples genes implicados en la generación del fenotipo del adipocito incluyendo el GLUT-4 (39). La implicación de la insulina es crucial en la adipogénesis a través del receptor de IGF-1, el IRS, la proteína PI3K, la enzima PDK y la proteína Akt/PKB (Figura 2, Sección 2). Debido a los numerosos factores que regulan —en un orden temporal— las etapas del proceso, cualquier alteración que perturbe el ritmo de expresión de los genes implicados dará lugar a un tejido adiposo disfuncional (39).

La adipogénesis es un proceso clave en la prevención de obesidad persistente ya que regula la cantidad de adipocitos y su capacidad para acumular grasa (Figura 3). El número de adipocitos se determina desde el periodo prenatal hasta la adolescencia. Una vez diferenciados, los adipocitos pierden su capacidad de dividirse; no obstante, el TA postnatal contiene precursores de adipocitos residuales a partir de los cuales pueden diferenciarse adipocitos adicionales. Los adipocitos son células de vida larga que pueden expandirse por hipertrofia hasta cinco veces su volumen (~1.0 ml) para almacenar el exceso de lípidos. En estados normo peso el TA regula la termogénesis y el equilibrio energético, la homeostasis de la glucosa y el metabolismo lipídico. El TA es además un órgano endocrino que produce hormonas (leptina, resistina

y adiponectina) y adipocinas que median con órganos contiguos y a distancia como hígado, músculo y sistema nervioso; y otras como la noradrenalina y glucocorticoides, implicadas en la liberación de ácidos grasos de adipocitos y la insulina, que estimula el acopio de triglicéridos. En condición de sobrepeso el TA expandido activa su función endocrina que, en última instancia, genera estados crónicos de estrés oxidativo y estrés del retículo endoplasmático e inflamación. El adipocito distendido altera la producción de citocinas inflamatorias y facilita la infiltración de macrófagos produciendo una inflamación local crónica de bajo grado característica del TA obeso (40, 41). Un adipocito hipertrofico estimula una adipogénesis disfuncional por hiperplasia, generando adipocitos que no se destruyen aunque se elimine la grasa. Con la distensión extrema el adipocito entra en apoptosis por hipoxia lo que resulta en estrés del retículo endoplasmático (42) y disfunción mitocondrial (43). En obesidad severa, el balance energético positivo prolongado y el excesivo

crecimiento del TA, por hipertrofia e hiperplasia, sobrecarga el metabolismo del adipocito promoviendo en exceso la liberación de citocinas e infiltración de macrófagos (44). El TA obeso cambia los macrófagos residentes a un fenotipo proinflamatorio responsable de la expresión de citocinas proinflamatorias del TA creando un ciclo vicioso que perpetúa la respuesta inflamatoria y culmina con adipocitos resistentes a la insulina con efectos deletéreos sobre células, tejidos y órganos (41).

Un aumento excesivo del TA por la hipertrofia y/o hiperplasia de adipocitos causa la obesidad (7, 41). El control de la adipogénesis es fundamental para evitar el exceso de grasa en las células y como estrategia para prevenir la obesidad. La hiperplasia está más estrechamente vinculada con la obesidad grave, y la hipertrofia es común en sobrepeso y obesidad siendo un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la DT2.

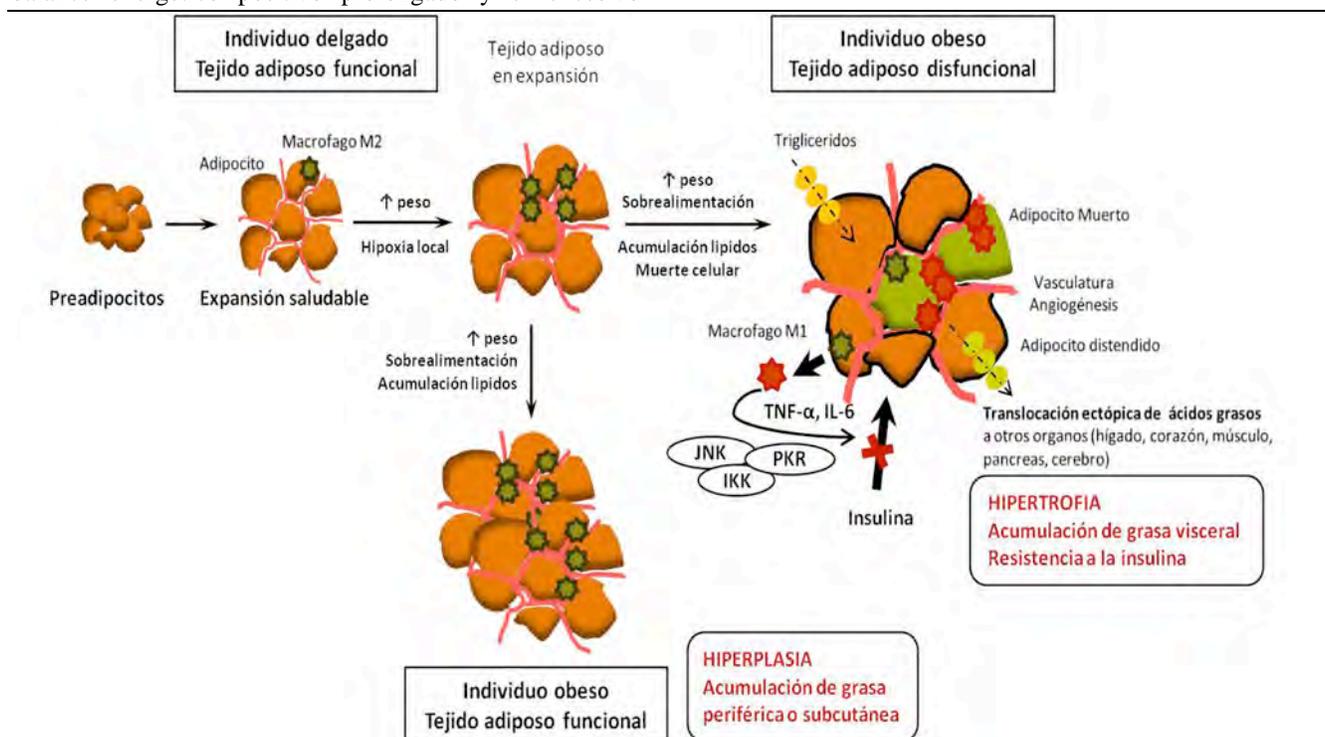


Figura 3. Flexibilidad del tejido adiposo: hipertrofia (crecimiento en tamaño) e hiperplasia de (crecimiento en número) de los adipocitos; Señalización de inflamación y resistencia a la acción de la insulina en el tejido adiposo; Traslocación ectópica de ácidos grasos. El crecimiento excesivo del tejido adiposo en condiciones de obesidad causa una disminución de la vascularización del tejido adiposo provocando hipoxia en los adipocitos periféricos lo que induce a la producción de citocinas pro-inflamatorias que activa las quinasas de estrés y perpetua un estado inflamatorio que promueve la infiltración de macrófagos y un cambio de fenotipo de macrófagos de tipo M2 a M1 pro-inflamatorio, dando lugar a un remodelado de su estructura y posterior inflamación con repercusiones tanto a nivel local como sistémico [TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa; IL-1 β , IL-6, interleucinas -1 β , -6; JNK, N-terminal c-JUN; IKK, inhibidor de la quinasa del factor nuclear kappa β ; PKR, proteína quinasa R].

4.2. Señalización defectuosa de la insulina en la obesidad

La activación de los receptores de insulina en tejidos periféricos induce la formación de IRS_pTyr que estimula debidamente la señalización de la insulina. En condiciones de obesidad, la disfunción habitual se localiza a nivel de post-receptor (45). El exceso de AGLs en tejidos periféricos unido a la inflamación causada por su toxicidad

interfiere la unión entre la insulina y su receptor interrumpiendo posteriores eventos de señalización. Los AGLs inhiben la fosforilación de Tyr y la formación de IRS_pTyr que impide una señal adecuada de insulina generando células resistentes a su acción. La obesidad es acompañada frecuentemente por un estado crónico de estrés oxidativo que contribuye a la formación de IRS_pSer

inactivando PI3K. Además, en obesidad, las kinasas de serina/treonina JNK, IKK (inhibidor de la kinasa del factor nuclear kappa β) y PKC (proteína kinasa C) se activan por moléculas proinflamatorias —TNF- α — o de estrés, bloqueando la acción de la insulina debido a la producción de IRSpSer e induciendo estados de RAI (40).

En adipocitos resistentes a la insulina la entrada de glucosa en la célula se reduce debido a una menor translocación de GLUT-4 causada por una menor expresión de IRS, y como resultado de PIP3 y PKB/Akt (8). El mecanismo más probable de RAI en el músculo y en el hepatocito es la fosforilación de Ser del IRS que impide la cascada normal para la entrada de glucosa en la célula (46). Cuando un exceso de AGLs llegan al músculo e hígado se reduce tanto el número de RI en la superficie celular como su actividad tirosin-kinasa lo que induce la activación de IRS por fosforilación de serinas (IRS_pSer) lo que distorsiona la respuesta a la insulina. En individuos con RAI inducida por obesidad se ha medido entre 3 y 4 veces menor actividad de PI3K y transporte de glucosa lo que, por tanto, reduce la captación de glucosa y altera la respuesta a los efectos de la insulina.

4.3. Activación de señales proinflamatorias en el tejido adiposo

En condiciones de obesidad, la expansión del TA favorece un entorno de hipoxia causado por adipocitos de gran tamaño —exceso de grasa en su interior— que activa las vías de señales inflamatorias en el TA —con efectos locales y sistémicos— como respuesta al estrés celular y daño causado por la distensión de los adipocitos. Aunque en general es una respuesta reparadora la inflamación del TA en ocasiones transcurre hacia una situación crónica y el desarrollo de múltiples patologías (Figura 3). Los efectos locales están asociados a la sobreproducción de la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), de selectinas y de las proteínas de choque térmico que atraen macrófagos proinflamatorios al TA. Estos macrófagos activados secretan citoquinas que agravan aún más el estado proinflamatorio del TA. La infiltración de macrófagos en los adipocitos a través de la unión de ácidos grasos a los receptores tipo Toll (TLR) de los monocitos y fibroblastos lleva a la activación de vías de señalización de ERK y de proteínas de estrés JNK y PKC (47) que a su vez, en una secuencia de reacciones de retroalimentación negativa, activa el TA que secreta adipocinas con efectos sistémicos conduciendo a un fallo multiorgánico (40). Entre estas adipocinas se encuentran las interleuquinas (IL-6, IL-1 β) y TNF- α que al unirse a sus receptores en los adipocitos inducen de nuevo las vías de señalización inflamatorias ERK estimulando la síntesis y migración de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP1) perpetuando así un estado inflamatorio. Un alto nivel de TNF- α induce la producción de otros factores inflamatorios que aumentan la lipólisis e inhiben la síntesis de adiponectina, la actividad del inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1), del angiotensinógeno (α -2-globulina secretada en el hígado) y de la leptina, lo que conlleva un aumento de RAI. Simultáneamente, un alto

nivel de TNF- α activa diferentes vías de señalización como JNK, IKK y PKC mediadas por NF- κ B induciendo la producción de mediadores inflamatorios como TNF- α y IL-6, e inhibiendo directamente la acción de la insulina a través de la fosforilación de serina del IRS (40). Además, IKK y PKC se activan por un exceso de ácidos grasos en las células contribuyendo a la inhibición de la señal de insulina (48). En particular, la liberación de MCP1 por el adipocito es crucial en el reclutamiento de macrófagos, que junto con la producción de especies reactivas al oxígeno (ROS) se consolida una respuesta inflamatoria sistémica mediadora de desórdenes metabólicos como los estados de RAI (48). Fallos metabólicos en el interior de la célula producen señales erróneas que son propagadas al exterior a través de inductores y grupos específicos de intermediarios que activan vías inflamatorias mediante complejas y reguladas redes.

4.4. Traslocación de ácidos grasos: acumulación de grasa ectópica

En obesidad severa, el TA excede la capacidad máxima para acumular grasa debido a la distensión extrema de los adipocitos por hipertrofia e hiperplasia. Estos, debido a fallos funcionales revientan y liberan AGs a la sangre facilitando su traslocación a órganos no diseñados para almacenar grasa como el músculo e hígado donde se acumula como lípidos citotóxicos. En particular, las ceramidas —un tipo de esfingolípidos— son los más perjudiciales por reducir la sensibilidad a la insulina, inducir inflamación (33, 49) e interferir en la función de las células β de páncreas, la reactividad vascular, y el metabolismo mitocondrial. Con el tiempo, la acumulación de grasa ectópica conduce a una inhibición generalizada de la acción de la insulina en la periferia que contribuye a una disfunción multiorgánica desencadenando trastornos metabólicos tales como hígado graso, fallos cardíacos y de riñón, y a un acopio de glucosa en sangre que a su vez estimula la producción de insulina generando un estado de DT2 cuando alcanza niveles peligrosos (7) (Figura 3). En roedores, la inhibición de la síntesis de ceramidas mejora trastornos metabólicos como DT2, cardiomiopatías, RAI, aterosclerosis y esteatohepatitis. Existe evidencia de que los trastornos metabólicos inducidos por obesidad son causados por acumulación ectópica de grasa y que la lipotoxicidad, depende además de la cantidad, del tipo de lípidos ectópicos acumulados. En este sentido, una estrategia de tratamiento de la RAI sería dirigir la acumulación ectópica de estos lípidos a formas saludables —triglicéridos— evitando formas dañinas como ceramidas. Así, el aumento de AGLs, consecuencia de la expansión del TA junto con el aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias, interfiere con la señal de insulina causando RAI, lo que ha llevado al concepto de lipotoxicidad como resultado de la acumulación ectópica de lípidos y sus efectos deletéreos, no sólo en el TA sino en otros tejidos periféricos, donde estas moléculas también inhiben la acción de la insulina (7).

La obesidad altera funciones básicas del retículo endoplasmático y la mitocondria. El exceso de lípidos

genera un entorno que sobrecarga sus funciones (50). Esto es crítico en el TA que sufre cambios morfológicos y funcionales estimulando la síntesis de lípidos y proteínas alterando los nutrientes intracelulares y la energía. Otro mecanismo clave en el inicio de la inflamación en obesidad es el estrés oxidativo. En estados de hiperglucemia por sobrealimentación, las células endoteliales del TA capturan más glucosa produciendo un exceso de ROS en la mitocondria que culmina en estados crónicos de estrés oxidativo que activan señales de inflamación en el interior de la célula endotelial agravando la inflamación local (7, 51). Las ceramidas, intermedios del metabolismo lipídico, estimulan la producción de ROS en los adipocitos potenciando aún más la inflamación y generalizando un estado sistémico de RAI (9, 49).

Destacar la función que los ácidos grasos y las citocinas proinflamatorias en estados de RAI central; La insulina origina una señal en el hipotálamo regulando la homeostasis calórica a través de la ingesta y el gasto energético. Así, la alteración de esta señal podría ser clave como desencadenante de obesidad, que a su vez se retroalimenta agravando —con el avance de la obesidad— la RAI central y periférica.

5. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER: APUNTES FISIOLÓGICOS Y PATOGENÉTICOS

La edad es el principal factor de riesgo para padecer la enfermedad de Alzheimer (52). Sin embargo, muchos otros factores son necesarios para inducir el proceso neurodegenerativo. Muchos son todavía desconocidos, pero otros factores o mecanismos ya sabemos que promueven alteraciones patogénicas neuronales y gliales claves en la EA (53, 54). Especial interés tiene la neuroinflamación (Figura 4). Un envejecimiento normal conlleva una leve inflamación en el SNC. Sin embargo, en la enfermedad de Alzheimer se detecta una inflamación crónica en el SNC denominada neuroinflamación. Citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) se detectan en sangre de pacientes con EA a niveles superiores a los medidos en sujetos sanos (55). Una leve pero constante inflamación producida por infecciones recurrentes daría lugar a inflamación sistémica crónica en la periferia, que causa disfunción neuronal y deterioro cognitivo (17). Recientes investigaciones han conseguido identificar marcadores de inflamación adicionales a los ya conocidos con el envejecimiento normal lo que indica que se podrían detectar sus signos en las fases preclínicas de la EA antes de que aparezcan los primeros síntomas (56).

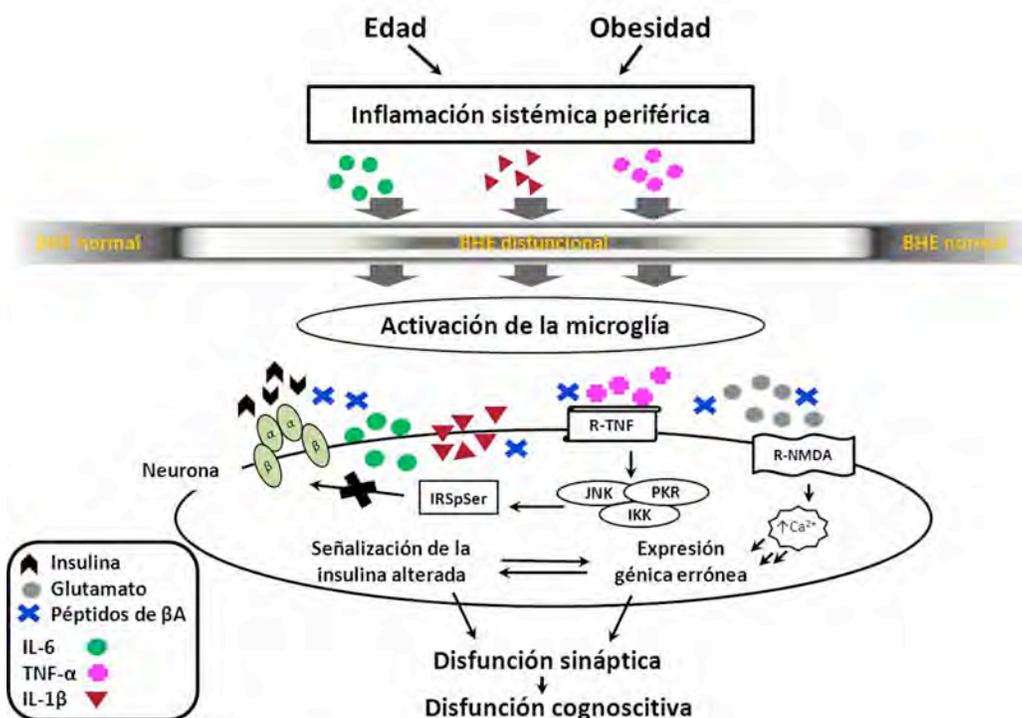


Figura 4. La edad y la obesidad producen inflamación sistémica periférica que contribuye a una señalización defectuosa de la insulina y a procesos de neuroinflamación que llevan a la disfunción sináptica y disfunción cognoscitiva. La inflamación periférica es un proceso crónico que produce un exceso de moléculas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6) que atraviesan la BHE activando la microglía que junto con los péptidos de β A conducen al incremento del TNF- α . El receptor del TNF- α activa las quinasas de estrés (JNK, IKK, PKR) que activan al IRS por fosforilación (IRSpSer) que a su vez inhibe IRS y bloquea el receptor de insulina. La sobreactivación del receptor NMDA del glutamato ocasionada por los péptidos de β A produce un excesivo flujo de Ca^{2+} , de estrés oxidativo, expresión aberrante de genes y señalización defectuosa de insulina, lo que desencadenan en el deterioro de la memoria y disfunción cognoscitiva [TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa; IL-1 β , IL-6, interleucinas -1 β , -6; BHE, barrera hematoencefálica; β A, beta amiloide; JNK, N-terminal c-JUN; IKK, inhibidor de la kinasa del factor nuclear kappa β ; PKR, proteína kinasa R; IRSpSer, sustrato del receptor de insulina fosforilado en serinas; RNMDA, receptor N-metil-D-aspartato; RTNF, receptor del TNF- α].

5.1. Activación de señales proinflamatorias en el sistema nervioso central

Así como el TNF- α es crucial en desórdenes metabólicos —estimulando un estado de RAI periférico— este marcador es secretado en el cerebro esencialmente por la microglía en respuesta a traumas, infecciones ó acumulaciones de agregados β A (57). De hecho, la sobreexpresión de TNF- α en el TA junto con altos niveles de adipocinas secretadas produce inflamación, directamente en la periferia e indirectamente en el SNC. En el cerebro se activan mecanismos de defensa similares a los que ocurren en la periferia con obesidad; evidencias indican que durante la EA, la señalización inflamatoria de TNF- α activa quinasas sensibles al estrés —JNK, IKK y PKR— que favorece la activación de IRS_{SpSer} en vez de IRS_{PTyr} (58). Esto bloquea la acción intracelular de insulina causando la disfunción sináptica y el deterioro en el hipocampo. Una adecuada señal de insulina en el SNC asegura la supervivencia neuronal y regula procesos clave del aprendizaje y la memoria, incluyendo la plasticidad dendrítica y las conexiones sinápticas y circuitos neuronales (59) (Figura 4).

En modelos animales de obesidad se ha descrito un estado de RAI cerebral vinculada a una inflamación en el hipotálamo, región del cerebro clave en la interacción entre el SNC y la periferia ya que media con el sistema endocrino. La inflamación en el TA es determinante en la consolidación de un estado de RAI periférico e inflamación hipotalámica y se realiza a través de la activación de TNF- α y NF- κ B/IKK- β (60, 61). Una neuroinflamación prolongada vulnera ciertas funciones del hipocampo asociadas con el almacenamiento y la formación de memorias. En las neuronas del hipocampo con EA se ha encontrado un estrés del retículo endoplasmático y la participación de IKK y PKR (58, 62, 63), lo que sugiere que la disfunción del hipocampo en EA y la desregulación hipotalámica en obesidad parecen compartir vías de inflamatorias.

Varios estudios indican que los adipocitos y los macrófagos residentes del TA conectan la periferia con el SNC (64). La comunicación entre los sistemas inmune y nervioso se produce de forma local y distante. La inflamación originada en el TA en obesidad y determinados grupos de mediadores inflamatorios y macrófagos periféricos circulantes atraviesan la BHE cuya permeabilidad está alterada, posiblemente por una hiperinsulinemia prolongada en condiciones de obesidad (21-23). Localmente la respuesta inmune en el SNC induce la activación de células gliales y macrófagos residentes. Inicialmente este proceso protege al cerebro, pero desequilibrios funcionales aún no entendidos incrementa los niveles de moléculas inflamatorias perpetuando un círculo vicioso de daño celular (24, 26, 53, 54). Un estudio de cerebros diabéticos con EA muestra niveles de IL-6 superiores a aquéllos encontrados en cerebros con EA no diabéticos (65), lo que sugiere que la diabetes podría hacer el cerebro más vulnerable a desequilibrios del sistema inflamatorio. La relación entre EA y el sistema inmunitario

es un tema de debate no resuelto.

Además, las neuronas dañadas en la EA, los depósitos de β A y los ovillos neurofibrilares estimulan desde la etapa inicial de la enfermedad inflamación local que activa la microglía agrupada alrededor de las placas neuríticas, y a su vez, la secretación de citocinas pro-inflamatorias cerebrales. Estos procesos se vinculan con fosforilación de tau, disminución de los niveles de sinaptofisina y alteración de conexiones sinápticas en EA (53, 54). La neutralización del exceso de IL-1 β en modelos Alzheimer triple-transgénicos reduce la hiperfosforilación de tau y la carga amiloide (66).

La vinculación de inflamación al Alzheimer se avala, además, por la identificación de ciertos polimorfismos de genes proinflamatorios (IL-1, IL-6, TNF- α) implicados en la enfermedad. Modelos animales de Alzheimer, como Tg2567 que sobreexpresan la proteína precursora de beta amiloide (APP), también muestran niveles superiores de marcadores de inflamación TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , proteína quimioatrayente-1, ciclooxigenasa-2 y el componente del complemento 1q (67). Los depósitos de β A acumulados potencian aún más la disfunción neuronal y sináptica y los efectos neuropatológicos manifestados durante la EA. Además de hiperfosforilar la proteína tau, los depósitos de β A están implicados en la desregularización del receptor NMDA (N-metil-D-aspartato) del glutamato que conduce a una excesiva producción de ROS —como resultado del incremento del flujo de calcio (Ca²⁺) inducido por una disfunción mitocondrial— y en interrupciones de la señal cerebral de la insulina, contribuyendo a la activación de la cascada inflamatoria de TNF- α y las quinasas de estrés JNK, IKK y PKR.

5.2. Señalización defectuosa de la insulina en la Alzheimer

En la EA, las neuronas del hipocampo soportan un elevado estrés del retículo endoplasmático que activa IKK y JNK, posiblemente debido a la inhibición de IRS inducida, y por depósitos de β A (58, 62, 63). Esto provee una evidencia adicional del estrecho paralelismo entre la señalización defectuosa de la insulina en el cerebro asociada con la inflamación en EA y RAI inducida por la inflamación crónica en los tejidos periféricos. La PKR, además está implicada en la inhibición del IRS neuronal inducida a su vez por la presencia de péptidos β A (58), lo que refuerza la idea de que mecanismos comunes subyacen a RAI periférica en DT2 y a las alteraciones de la señalización de insulina en el cerebro durante EA. El deterioro del IRS también se observó en el modelo Alzheimer de ratón doble transgénico APP/PS1, así como en monos cynomolgus a los que se les inyectó β A por vía intracerebroventricular (58). El análisis de los cerebros con EA confirma la fosforilación anormal de IRS en Ser asociada con RAI periférica (20). De hecho, el estado de RAI que caracteriza a los cerebros de enfermos de Alzheimer se asocia con la desregulación del IRS (IRS_{SpSer}) y estados de RAI (20). Es posible que la pérdida de receptores de insulina favorezca el incremento de IRS_{SpSer}. Esto es coherente con resultados que indican que la insulina bloquea los receptores de insulina interferidos

por péptidos β A en mayor grado que los IRSpSer (68). O bien, como se ha demostrado en cerebros con EA, la eliminación de receptores de insulina de las membranas neuronales estimulada por depósitos de β A (68) favorece una señalización errónea de la insulina lo que aumenta la concentración de IRSpSer a expensas de IRSpTyr (58, 69).

Los fallos de la señal neuronal de insulina en la función de la sinapsis y la disfunción de los circuitos neuronales ocurren en paralelo y son procesos inducidos en su mayor parte por la inflamación (Figura 4). El estrés metabólico activa las señales inflamatorias alterando la señal y respuesta celular a la insulina, lo que conlleva riesgo de demencia y deterioro cognoscitivo (34). En la EA el nivel de insulina en el líquido cerebroespinal suele ser bajo mientras que en plasma es elevado (70) debido posiblemente a una alteración en el transporte de insulina al cerebro (19). A pesar de la presencia en varios tipos de células, el RI tiene una expresión regulada y durante la EA se ha medido una menor cantidad receptores. Una pérdida de la actividad tirosin-kinasa del receptor de insulina y el consiguiente descenso de la expresión de IRS potencia el avance de la enfermedad (3, 19, 23). Cambios en la composición de la membrana, especialmente respecto al colesterol, producidos por envejecimiento y/o por el genotipo apolipoproteína E (APOE)- ϵ 4 pueden causar defectos en la unión de la insulina con su receptor (3, 19).

Defectos en la señal de insulina afectan esencialmente a la vía de PI3K, lo que induce diversas situaciones nocivas. La disminución en la expresión y activación de los GLUTs mediada por PI3K, podría ralentizar el metabolismo de glucosa en el cerebro con la consecuente ralentización del metabolismo mitocondrial y de la producción de ATP (23). En obesidad, mecanismos de lipotoxicidad, estados crónicos de estrés oxidativo e inflamación coexisten causando hiperinsulinemia para mantener el nivel normal de glucosa. Estados de hiperglucemia e hiperinsulinemia conducen a un desequilibrio en las rutas metabólicas de PI3K y MAPK, a una alteración vascular y metabólica de insulina, así como a la activación de citocinas pro-inflamatorias, dislipidemias e índices mayores de hiperglucemia. En las neuronas vulnerables debido a la EA todas las vías de MAPK —ERK, JNK y p38— se activan (71). Ratones transgénicos que sobreexpresan la APP muestran incrementos en la actividad de JNK/SAPK y p38 en la corteza, aumentos de depósitos de β A y de los niveles de tau fosforilada, junto a una pérdida de sinaptofisina —indicador de la integridad sináptica (72). Esto indica que MAPK contribuye a la patogénesis de la EA (23).

El exceso de ácidos grasos intracelulares activa vías metabólicas no oxidativas, como lo es la formación de ceramidas que, generadas en la periferia, cruzan la BHE —debilitada por el estado de RAI inducido por obesidad (21-23)— y alteran la composición de las balsas lipídicas de la membrana celular (49). Estos microdominios especializados sirven de plataforma para la ubicación de APP y las secretasas — α , β , γ — donde la concentración elevada de esfingolípidos y colesterol confiere un entorno

idóneo para la formación de β A mediante la escisión amiloidogénica de la APP (73). De este modo, la formación de péptidos β A inducida por la inflamación central se potencia y la alteración de la señalización de insulina neuronal se ve favorecida (33). Una baja concentración de colesterol en las balsas lipídicas impediría la fijación de la APP y por tanto se reduciría el riesgo de desarrollar la enfermedad.

Una señal errónea de insulina altera también la composición lipídica de las membranas celulares lo que, en el cerebro, altera el procesamiento de APP y su escisión por secretasas — α , β , γ — así como el grado de fosforilación de tau. Los productos de la APP y de la fosforilación de tau, a su vez, afectan la señal de insulina, lo que origina un ciclo vicioso en el que los desórdenes metabólicos inducen el incremento de β A y de hiperfosforilación de tau alterando aún más el metabolismo. Además, las presenilinas —PSEN1 y PSEN2— que forman parte del complejo de la secretasa γ , participan en el metabolismo de lípidos de membrana en procesos como la síntesis de colesterol y de esfingolípidos que a su vez regulan la actividad de las presenilinas creando otro ciclo de retroalimentación negativo en la señal de la insulina.

Otro factor que interviene en la señalización de insulina es la cantidad de β A que compite con la insulina por el sitio de unión de la enzima degradadora de insulina. Así, elevados niveles de insulina en sangre limita la degradación de β A favoreciendo la formación de placas neuríticas. Otra molécula por la que el β A compite con la insulina es el RI que altera su función y distorsiona MAPK y PI3K, y las vías de la calmodulina —proteína kinasa dependiente de Ca^{2+} — y del establecimiento de la potenciación a largo plazo en el hipocampo. El fragmento α soluble procedente de la escisión de la APP por la secretasa α puede también activar las vías de MAPK y PI3K y así potenciar plasticidad sináptica y la supervivencia neuronal evitando la apoptosis. La inhibición en el cerebro de la señal de insulina por las vías MAPK y/o PI3K altera la plasticidad sináptica y la arquitectura de las espinas dendríticas como se observa en la EA. En un análisis de cerebros con la EA se ha encontrado, respecto a los cerebros sanos, una menor cantidad de insulina y de receptores así como mínima respuesta a la insulina. También se detectan alteraciones en la actividad de moléculas en las cascadas PI3K y MAPK de la señal de insulina, siendo la extensión de estos cambios proporcionales a la gravedad de la enfermedad (20, 70).

La insulina regula la función del cerebro; interviene en la liberación de neurotransmisores en la sinapsis, la supervivencia neuronal, el metabolismo energético, y la plasticidad, todos ellos procesos asociadas con el aprendizaje y la memoria a largo plazo. Cualquier alteración en la señal neuronal de insulina produce neuroinflamación, estrés oxidativo y déficit energético que lleva a la sobreexpresión de APP y anomalías en su procesamiento, lo que favorece la acumulación de β A que

media la cascada neurodegenerativa y muerte celular. Estudios indican que la inflamación y la señal alterada de la insulina son factores comunes en procesos neuropatogénicos desencadenados por βA (20, 69).

Es probable que la RAI periférica en DT2 y la alteración de la señal cerebral de insulina en la EA sean procesos mediados por mecanismos similares. A través de PI3K la insulina regula la actividad de kinasa glucógeno sintasa (GSK3), una enzima serina/treonina implicada en DT2 y EA constitutivamente activada en la neurona e inhibe su actividad por fosforilación (74). La neurodegeneración se reduce por disminución de GSK3 (34). Ratones que sobreexpresan GSK3 potencian la hiperfosforilación de tau y reflejan menores rasgos cognitivos. En casos de EA la forma activa de GSK3 se fosforila en menor grado potenciando el proceso amiloidogénico de APP que deriva a niveles intracelulares elevados de βA (75).

Respecto a la relación del genotipo APOE con Alzheimer, estudios genómicos demuestran que el alelo $\epsilon 4$ del gen APOE aumenta el riesgo para desarrollar la enfermedad, por lo que alteraciones de lípidos mediadas por este gen pudiera ser un desencadenante de la enfermedad. La coexistencia de hiperinsulinemia e hiperglucemia acelera la formación de placas neuríticas en portadores de este polimorfismo (76).

En humanos, algunos estudios indican que la neurodegeneración está vinculada a la RAI —además de la inflamación— un mecanismo que conecta la obesidad con la EA se efectúa vía hígado-cerebro a través del cual los lípidos tóxicos como las ceramidas, producidos en estados de RAI periférica sistémica atraviesan la BHE causando RAI en el cerebro además de disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, neuroinflamación y muerte celular (33, 49) (Figura 5).

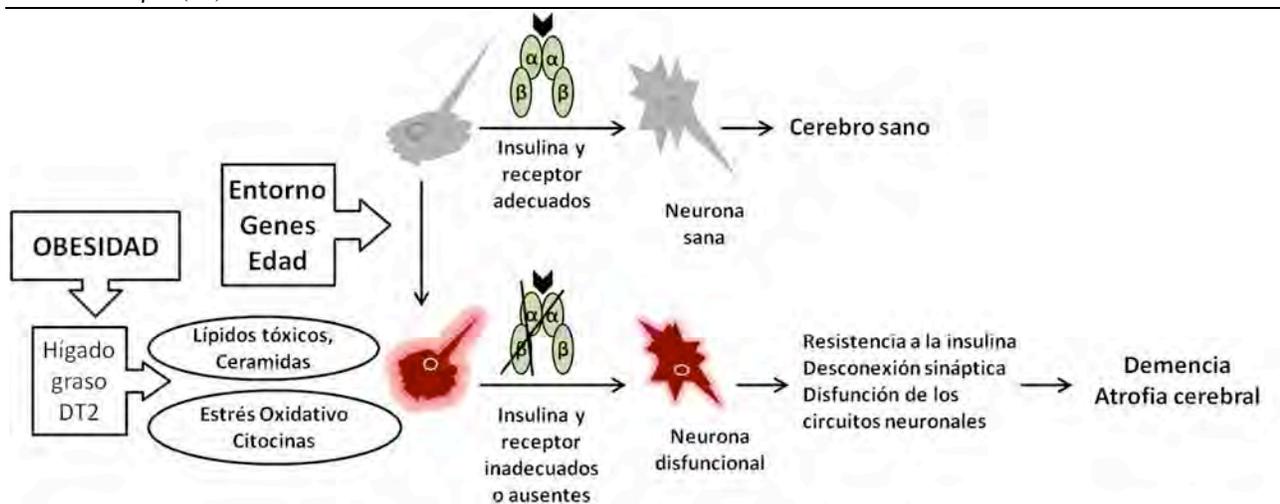


Figura 5. Mecanismos de la enfermedad de Alzheimer. La ruta de la correcta señalización de insulina en el cerebro es esencial para la supervivencia neuronal, el funcionamiento adecuado de los neurotransmisores y la plasticidad neuronal. Daños derivados de los factores ambientales y genéticos junto con el envejecimiento amenazan la integridad de la expresión de la insulina y la función de su receptor en las células. Otro mecanismo que relaciona el deterioro cognitivo con la obesidad es mediado por lípidos citotóxicos y marcadores proinflamatorios y especies reactivas a l oxógeno , causan la resistencia a la acción de la insulina periférica cruzan la BHE y causan resistencia cerebral a la insulina, el estrés oxidativo, la inflamación y la neurodegeneración. Así, la resistencia a la insulina puede precipitar, propagar o agravar Alzheimer por medio de un eje de hígado-cerebrales de la neurodegeneración.

5.3. La enfermedad de Alzheimer ¿Diabetes tipo 3 ó síndrome de resistencia cerebral a la insulina?

Las deficiencias específicas del cerebro en la señalización de la insulina cuentan para la mayoría de las anomalías asociadas a la EA. Como ocurre en las células de tejidos periféricos (músculo, tejido adiposo e hígado) en la DT2, en las neuronas durante la EA se activan las rutas JNK/TNF- α y IKK β /NF- κ B que inducen la fosforilación de serina de IRS e inhiben la capacidad de la insulina para estimular la fosforilación del IRS en tirosina lo que impide la unión con PI3K. La resistencia a la insulina en la EA no se limita a los tejidos periféricos. En la EA, con o sin DT2, el propio cerebro se vuelve resistente a la insulina.

Como se comenta en la Introducción, algunos autores consideran la enfermedad de Alzheimer como una forma específica de diabetes en la que una deficiencia de insulina

así como un mecanismo de resistencia a su acción tiene sus efectos limitados al cerebro (3, 4). Entender la EA como una diabetes restringida al cerebro ha llevado a denominar esta enfermedad como *diabetes de tipo 3* (2, 5). Pese a ello, algunas observaciones no apoyan esta denominación. Un rasgo clínico para el diagnóstico de diabetes es la hiperglucemia, pero no hay certeza de hiperglucemia cerebral en Alzheimer. No está demostrado tampoco que en la EA el cerebro sea insulino-deficiente (77). Sin embargo, en ausencia de diabetes, los cerebros con EA contienen neuronas resistentes a la insulina. Es más, pacientes con la EA avanzada tienen niveles elevados de insulina en ayunas y niveles bajos de glucosa eliminada (resistencia periférica). Durante el proceso de Alzheimer aparecen células nerviosas resistentes a la acción de la insulina. De acuerdo con esto, algunos autores consideran que un término más preciso para describir el estado del

cerebro durante la EA sería *síndrome de resistencia cerebral a la acción de la insulina* (34) ya identificado como un síndrome de varios trastornos tales como síndrome metabólico (78).

6. CONCLUSIONES Y FUTURAS DIRECCIONES EN INVESTIGACION Y TRATAMIENTO

Cada vez más estudios sugieren que el Alzheimer es una enfermedad metabólica en la que tanto el uso de la glucosa como la sensibilidad a la insulina en el cerebro resultan alterados de forma progresiva y, que como resultado, origina pérdida neuronal, disfunción sináptica, hiperfosforilación de tau, acumulación de depósitos de β A y neuroinflamación. La alteración observada en los perfiles de expresión de genes implicados en procesos de obesidad en el hipocampo de enfermos de Alzheimer ratifica la asociación de estos desordenes metabólicos con la EA (1).

El principal mecanismo que vincula la obesidad y Alzheimer consiste en un deterioro en la señalización de insulina mediado por un proceso de inflamación. Los mediadores proinflamatorios periféricos contribuyen a la neuroinflamación y a la resistencia de neuronas a la acción de la insulina. Las neuronas deficientes en insulina son vulnerables al estrés oxidativo, a la toxicidad de los depósitos de β A y a procesos de apoptosis, que a su vez dañan los receptores de insulina neuronales interfiriendo aún más en el proceso de señalización de la insulina (40, 41).

El exceso de AGs procedentes de la dieta causa RAI e inflamación en el TA. La situación se agrava por sobrealimentación prolongada en el tiempo aumentando los niveles de glucosa y AGLs en plasma que resultan lipotóxicos en el músculo e hígado lo que conduce a la desregulación de la vía PIK3 de la señal de la insulina mediante la activación de PKC aumentando la cantidad de IRSpSer e impidiendo la correcta translocación de los transportadores GLUT-4 a la superficie de la membrana, disminuyendo la captación de glucosa y por tanto induciendo un estado de RAI generalizada.

A su vez, los mediadores proinflamatorios periféricos contribuyen a la neuroinflamación haciendo a las neuronas resistentes a la acción de la insulina y causando disfunción neuronal encontrada en la EA. Además de los factores endógenos del SNC tales como genéticos, metabólicos y neurohormonales, resultados revelan un daño cognitivo asociado a la obesidad; la neurodegeneración causada por la RAI periférica es conducida a través de un eje hígado-cerebro mediante el cual los lípidos tóxicos, incluyendo las ceramidas, junto con citocinas proinflamatorias cruzan la BHE causando RAI y estrés oxidativo en el cerebro, neuroinflamación y muerte neuronal. En el plasma de enfermos de Alzheimer se han encontrado niveles elevados de esfingolípidos y ceramidas. Es decir, cualquier interferencia sobre alguna de moléculas implicadas en las rutas de señalización de insulina desencadena estados de RAI con efectos deletéreos en otros órganos. Alteraciones de dicha señal en las neuronas se asocian con deterioro del metabolismo energético, pérdida neuronal, desconexión

sináptica, hiperfosforilación de tau y acumulación de depósitos de β A, todos ellos expuestos en la EA resultantes, posiblemente de una leve inflamación reiterada durante la vida.

La obesidad, por tanto, produce un estado de RAI periférico sistémico a través de la translocación de AGs y acumulación de grasa ectópica, y de la respuesta inmunitaria pro-inflamatoria. A su vez, la neurodegeneración se produce por un estado de RAI central causada por dos mecanismos: uno mediado por factores endógenos —genéticos, metabólicos y neurohormonales— al SNC y el otro, relacionado con RAI periférica que produce exceso de ceramidas tóxicas.

Es importante destacar que actualmente no existe tratamiento para curar el Alzheimer y que su avance es irreversible una vez que los síntomas aparecen. La demostrada vinculación de la EA con la obesidad resalta la importancia de su prevención como significativo factor de riesgo para el desarrollo de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina, que aparte de conducir al desarrollo de una diabetes tipo 2, tienen efectos patogénicos en nuestro cerebro. Esta prevención, a través de la creación de hábitos saludables en alimentación y ejercicio físico, así como fármacos específicos para tratar las enfermedades metabólicas, será el objeto de la segunda parte de la monografía. Por otra parte, hay que resaltar que estos nuevos conceptos sobre la relación entre disfunción metabólica y neurodegeneración abren la puerta a la investigación de nuevas dianas terapéuticas que podrían resultar prometedoras para detener el avance de la EA.

7. REFERENCIAS

1. Hokama M, Oka S, Leon J, Ninomiya T, Honda H, Sasaki K, Iwaki T, Ohara T, Sasaki T, LaFerla FM, Kiyohara Y, Nakabeppu Y. Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains: the Hisayama study. *Cereb Cortex* 2014;24:2476-88.
2. Profenno LA, Porsteinsson AP, Faraone SV. Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders. *Biol Psychiatry* 2010;67:505-12.
3. De la Monte SM. Insulin resistance and Alzheimer's disease. *BMB Rep* 2009;42:475-81.
4. Gupta A, Bisht B, Dey CS. Peripheral insulin-sensitizer drug metformin ameliorates neuronal insulin resistance and Alzheimer's-like changes. *Neuropharmacology* 2011;60:910-20.
5. Ohara T, Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, Hata J, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. Glucose tolerance status and risk of dementia in the community: the Hisayama study. *Neurology* 2011;77:1126-34.
6. Zhang PY. Cardiovascular disease in diabetes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014;18:2205-14.
7. Ghosh S. Ectopic fat: The potential target for obesity management. *J Obes Metab Res* 2014;1:30-38.
9. Chaurasia B, Summers SA. Ceramides - lipotoxic inducers of metabolic disorders. *Trends Endocrinol*

- Metab 2015;26:538-50.
10. Nguyen JC, Killcross AS, Jenkins TA. Obesity and cognitive decline: role of inflammation and vascular changes. *Front Neurosci* 2014;8:375.
 11. Toda N, Ayajiki K, Okamura T. Obesity-induced cerebral hypoperfusion derived from endothelial dysfunction: one of the risk factors for Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2014;11:733-44.
 12. Emmerzaal TL, Kiliaan AJ, Gustafson DR. 2003-2013: A decade of body mass index, Alzheimer's disease, and dementia. *J Alzheimer's Dis* 2015;43:739-55.
 13. Meng XF, Yu JT, Wang HF, Tan MS, Wang C, Tan CC, Tan L. Midlife vascular risk factors and the risk of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis* 2014;42:1295-310.
 14. Hildreth KL, Van Pelt RE, Schwartz RS. Obesity, insulin resistance, and Alzheimer's disease. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:1549-57.
 15. Nuzzo D, Picone P, Baldassano S, Caruana L, Messina E, Marino Gammazza A, Cappello F, Mulè F, Di Carlo M. Insulin resistance as common molecular denominator linking obesity to Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res* 2015;12:723-35.
 16. Ferreira ST, Clarke JR, Bomfim TR, DeFelice FG. Inflammation, defective insulin signaling, and neuronal dysfunction in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2014;10:S76-83.
 17. De Felice FG, Lourenco MV, Ferreira ST. How does brain insulin resistance develop in Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dement* 2014;10:S26-32.
 18. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006;116:1793-801.
 19. De la Monte SM, Tong M. Brain metabolic dysfunction at the core of Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol* 2014;88:548-59.
 20. Talbot K, Wang HY, Kazi H, Han LY, Bakshi KP, Stucky A, Fuino RL, Kawaguchi KR, Samoyedny AJ, Wilson RS, Arvanitakis Z, Schneider JA, Wolf BA, Bennett DA, Trojanowski JQ, Arnold SE. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J Clin Invest* 2012;122:1316-38.
 21. Acharya NK, Levin EC, Clifford PM, Han M, Tourtellotte R, Chamberlain D, Pollaro M, Coretti NJ, Kosciuk MC, Nagele EP, Demarshall C, Freeman T, Shi Y, Guan C, Macphee CH, Wilensky RL, Nagele RG. Diabetes and hypercholesterolemia increase blood-brain barrier permeability and brain amyloid deposition: beneficial effects of the LpPLA2 inhibitor darapladib. *J Alzheimer's Dis* 2013;35:179-98.
 22. Lopez-Ramirez MA, Wu D, Pryce G, Simpson JE, Reijerkerk A, King-Robson J, Kay O, DeVries HE, Hirst MC, Sharrack B, Baker D, Male DK, Michael GJ, Romero IA. MicroRNA-155 negatively affects blood-brain barrier function during neuroinflammation. *FASEB J* 2014;28:2551-65.
 23. Bosco D, Fava A, Plastino M, Montalcini T, Pujia A. Possible implications of insulin resistance and glucose metabolism in Alzheimer's disease pathogenesis. *J Cell Mol Med* 2011;15:1807-21.
 24. Takeda S, Sato N, Ikimura K, Nishino H, Rakugi H, Morishita R. Increased blood-brain barrier vulnerability to systemic inflammation in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol Aging* 2013;34:2064-70.
 25. Hanisch UK. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* 2002;40:140-55.
 26. Yeh FL, Wang Y, Tom I, Gonzalez LC, Sheng M. TREM2 binds to apolipoproteins, including APOE and CLU/APOJ, and thereby facilitates uptake of A β by microglia. *Neuron* 2016;20:91:328-40.
 27. Olmos-Alonso A, Schettters ST, Sri S, Askew K, Mancuso R, Vargas-Caballero M, Holscher C, Perry VH, Gomez-Nicola D. Pharmacological targeting of CSF1R inhibits microglial proliferation and prevents the progression of Alzheimer's-like pathology. *Brain* 2016;139:891-907.
 28. Gontier G, Lin K, Villeda SA. Fat chance for neural stem cells in Alzheimer's disease. *Cell Stem Cell* 2015;17:373-4.
 29. Hamilton LK, Dufresne M, Joppé SE, Petryszyn S, Aumont A, Calon F, Barnabé-Heider F, Furtos A, Parent M, Chaurand P, Fernandes KJ. Aberrant lipid metabolism in the forebrain niche suppresses adult neural stem cell proliferation in an animal model of Alzheimer's disease. *Cell Stem Cell* 2015;17:397-411.
 30. Steen E, Terry BM, Rivera EJ, Cannon JL, Neely TR, Tavares R, Xu XJ, Wands JR, De la Monte SM. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease - is this type 3 diabetes? *J Alzheimers Dis* 2005;7:63-80.
 31. Kroner Z. The relationship between Alzheimer's disease and diabetes: Type 3 diabetes? *Altern Med Rev* 2009;14:373-9.
 32. Rivera E, Goldin A, Fulmer N, Tavares R, Wands JR, de la Monte SM. Insulin and insulin-like growth factor expression and function deteriorate with progression of Alzheimer's disease: link to brain reductions in acetylcholine. *J Alzheimers Dis* 2005;8:247-68.
 33. De la Monte SM. Triangulated mal-signaling in Alzheimer's disease: roles of neurotoxic ceramides, ER stress, and insulin resistance reviewed. *J Alzheimer's Dis* 2012;30:S231-49.
 34. Correia SC, Santos RX, Perry G, Zhu X, Moreira PI, Smith MA. Insulin-resistant brain state: the culprit in sporadic Alzheimer's disease? *Ageing Res Rev* 2011;10:264-73.
 35. Craft S. Insulin resistance syndrome and Alzheimer's disease: age- and obesity-related effects on memory, amyloid, and inflammation. *Neurobiol Aging* 2005;26:65-9.
 36. Kuljis RO, Salkovic-Petrisic M. Dementia, diabetes,

- Alzheimer's disease, and insulin resistance in the brain: progress, dilemmas, new opportunities, and a hypothesis to tackle intersecting epidemics. *J Alzheimers Dis* 2011;25:29-41.
37. Cheng Z, Tseng Y, White MF. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2010;21:589-98.
 38. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 2012;148:852-71.
 39. Tang QQ, Lane MD. Adipogenesis: from stem cell to adipocyte. *Annu Rev Biochem* 2012;81:715-36.
 40. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* 2011;29:415-45.
 41. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest* 2007;117:175-84.
 42. Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Segawa K, Furukawa S, Tochino Y, Komuro R, Matsuda M, Shimomura I. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes* 2007;56:901-11.
 43. Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:54-66.
 44. Lin Y, Berg AH, Iyengar P, Lam TK, Giacca A, Combs TP, Rajala MW, Du X, Rollman B, Li W, Hawkins M, Barzilai N, Rhodes CJ, Fantus IG, Brownlee M, Scherer PE. The hyperglycemia-induced inflammatory response in adipocytes: the role of reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2005;280:4617-26.
 45. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414:799-806.
 46. Sykiotis GP, Papavassiliou AG. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1: a novel target for the reversal of insulin resistance. *Mol Endocrinol* 2001;15:1864-9.
 47. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796-808.
 48. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005;115:1111-9.
 49. Holland WL, Bikman BT, Wang LP, Yuguang G, Sargent KM, Bulchand S, Knotts TA, Shui G, Clegg DJ, Wenk MR, Pagliassotti MJ, Scherer PE, Summers SA. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest* 2011;121:1858-70.
 50. Nakatani Y, Kaneto H, Kawamori D, Yoshiuchi K, Hatazaki M, Matsuoka TA, Ozawa K, Ogawa S, Hori M, Yamasaki Y, Matsuhisa M. Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes. *J Biol Chem* 2005;280:847-51 [Erratum in: *J Biol Chem* 2005;280:30648].
 51. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 2005;307:384-7.
 52. Vitale G, Salvioli S, Franceschi C. Oxidative stress and the ageing endocrine system. *Nat Rev Endocrinol* 2013;9:228-40.
 53. Toledano A, Álvarez MI, Toledano-Díaz A, Rodríguez-Arellano JJ. New concepts on the functionality of the nervous system: the revolution of the glial cells. II. Glial responses keys in the pathogenesis and treatment of diseases of SN. *An Real Acad Farm* 2016;82:51-67.
 54. Toledano A, Álvarez MI, Toledano-Díaz A. Envejecimiento cerebral normal y patológico: continuum fisiopatológico o dualidad de procesos involutivos. *An Real Acad Farm* 2014;80:500-39.
 55. Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2010;68:930-41.
 56. Alcolea D, Martínez-Lage P, Sánchez-Juan P, Olazarán J, Antúnez C, Izagirre A, Ecay-Torres M, Estanga A, Clerigué M, Guisasaola MC, Sánchez Ruiz D, Marín Muñoz J, Calero M, Blesa R, Clarimón J, Carmona-Iragui M, Morenas-Rodríguez E, Rodríguez-Rodríguez E, Vázquez Higuera JL, Fortea J, Lleó A. Amyloid precursor protein metabolism and inflammation markers in preclinical Alzheimer disease. *Neurology* 2015;85:626-33.
 57. Park KM, Bowers WJ. Tumor Necrosis Factor-alpha mediated signaling in neuronal homeostasis and dysfunction. *Cell Signal* 2010;22:977-983.
 58. Bomfim TR, Forny-Germano L, Sathler LB, Brito-Moreira J, Houzel JC, Decker H, Silverman MA, Kazi H, Melo HM, McClean PL, Holscher C, Arnold SE, Talbot K, Klein WL, Munoz DP, Ferreira ST, De Felice FG. An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by Alzheimer's disease-associated A β oligomers. *J Clin Invest* 2012;122:1339-53.
 59. Costello DA, Claret M, Al-Qassab H, Plattner F, Irvine EE, Choudhury AI, Giese KP, Withers DJ, Pedarzani P. Brain deletion of insulin receptor substrate 2 disrupts hippocampal synaptic plasticity and metaplasticity. *PLoS One* 2012;7:e31124.
 60. Thaler JP, Yi CX, Schur EA, Guyenet SJ, Hwang BH, Dietrich MO, Zhao X, Sarruf DA, Izgur V, Maravilla KR, Nguyen HT, Fischer JD, Matsen ME, Wisse BE, Morton GJ, Horvath TL, Baskin DG, Tschöp MH, Schwartz MW. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *J Clin Invest* 2012;122:153-62.
 61. Purkayastha S, Zhang H, Zhang G, Ahmed Z, Wang Y, Cai D. Neural dysregulation of peripheral insulin action and blood pressure by brain endoplasmic

- reticulum stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:2939-44.
62. Hoozemans JJ, Van Haastert ES, Nijholt DA, Rozemuller AJ, Eikelenboom P, Scheper W. The unfolded protein response is activated in pretangle neurons in Alzheimer's disease hippocampus. *Am J Pathol* 2009;174:1241-51.
 63. Lourenco MV, Clarke JR, Frozza RL, Bomfim TR, Forny-Germano L, Batista AF, Sathler LB, Brito-Moreira J, Amaral OB, Silva CA, Freitas-Correa L, Espírito-Santo S, Campello-Costa P, Houzel JC, Klein WL, Holscher C, Carnevali JB, Silva AM, Velloso LA, Munoz DP, Ferreira ST, DeFelice FG. TNF- α mediates PKR-dependent memory impairment and brain IRS-1 inhibition induced by Alzheimer's β -amyloid oligomers in mice and monkeys. *Cell Metab* 2013;18:831-43.
 64. Banks WA. Blood-brain barrier transport of cytokines: a mechanism for neuropathology. *Curr Pharm Des* 2005;11:973-84.
 65. Sonnen JA, Larson EB, Brickell K, Crane PK, Woltjer R, Montine TJ, Craft S. Different patterns of cerebral injury in dementia with or without diabetes. *Arch Neurol* 2009;66:315-22. 8. Smith U. Abdominal obesity: a marker of ectopic fat accumulation. *J Clin Invest* 2015;125:1790-2.
 66. Kitazawa M, Cheng D, Tsukamoto MR, Koike MA, Wes PD, Vasilevko V, Cribbs DH, LaFerla FM. Blocking IL-1 signaling rescues cognition, attenuates tau pathology, and restores neuronal β -catenin pathway function in an Alzheimer's disease model. *J Immunol* 2011;187:6539-49.
 67. Sly LM, Krzesicki RF, Brashler JR, Buhl AE, McKinley DD, Carter DB, Chin JE. Endogenous brain cytokine mRNA and inflammatory responses to lipopolysaccharide are elevated in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull* 2001;56:581-8.
 68. DeFelice FG, Vieira MN, Bomfim TR, Decker H, Velasco PT, Lambert MP, Viola KL, Zhao WQ, Ferreira ST, Klein WL. Protection of synapses against Alzheimer's-linked toxins: insulin signaling prevents the pathogenic binding of A β oligomers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:1971-6.
 69. Craft S. Alzheimer disease: Insulin resistance and AD-extending the translational path. *Nat Rev Neurol* 2012;8:360-2.
 70. Moloney AM, Griffin RJ, Timmons S, O'Connor R, Ravid R, O'Neill C. Defects in IGF-1 receptor, insulin receptor and IRS-1/2 in Alzheimer's disease indicate possible resistance to IGF-1 and insulin signalling. *Neurobiol Aging* 2010;31:224-43.
 71. Zhu X, Lee HG, Raina AK, Perry G, Smith MA. The role of mitogen-activated protein kinase pathways in Alzheimer's disease. *Neurosignals* 2002;11:270-81.
 72. Miloso M, Scuteri A, Foudah D, Tredici G. MAPKs as mediators of cell fate determination: an approach to neurodegenerative diseases. *Curr Med Chem* 2008;15:538-48.
 73. Kosicek M, Hecimovic S. Phospholipids and Alzheimer's disease: alterations, mechanisms and potential biomarkers. *Int J Mol Sci* 2013;14:1310-22.
 74. Kaidanovich O, Eldar-Finkelman H. The role of glycogen synthase kinase-3 in insulin resistance and type 2 diabetes. *Expert Opin Ther Targets* 2002;6:555-61.
 75. Kim B, Feldman EL. Insulin resistance in the nervous system. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23:133-41.
 76. Bales KR. Brain lipid metabolism, apolipoprotein E and the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 2010;59:295-302.
 77. Talbot K, Wang HY. The nature, significance, and glucagon-like peptide-1 analog treatment of brain insulin resistance in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2014;10:S12-25.
 78. Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis Model Mech* 2009;2:231-7.



Application of molecular topology for predicting the leishmanicidal activity of a group of compounds derived from pyrrolo [1,2- α] quinoxaline

Title in Spanish: *Aplicación de la Topología Molecular para la predicción de la actividad frente a leishmania de un grupo de compuestos derivados del pirrol [1,2- α] quinoxalina*

Alberto Jiménez Mateo¹, Rebeca Santano García¹, Aurora Martín Sarmiento¹, Lourdes García Guidet¹, Jorge Gálvez² y Ramón García-Domenech^{2,*}

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología, Facultad de Farmacia. Universitat de Valencia. Avd. V.A Estellés. s/n, 46100-Burjassot. Valencia, Spain. ²Departamento de Química Física, Facultad de Farmacia. Universitat de Valencia. Avd. V.A Estellés. s/n, 46100-Burjassot. Valencia, Spain.

ABSTRACT: Leishmaniasis is present among the six greatest diseases reported in the WHO's Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). Nowadays, the available drugs show high toxicities or resistance has been developed. Therefore the search of new compounds that possess anti-leishmania activity is an attractive chemotherapeutic option. In the present study we have applied molecular topology and multilinear regression analysis to develop a QSAR model able to predict the activity of a series of pyrrolo [1,2- α] quinoxaline-derived compounds against *L. major* and *L. donovani*. Once validated the selected topological models, a molecular screening has been performed and new quinoxaline derivatives with potential anti-leishmania activity have been selected.

RESUMEN: La leishmaniasis se encuentra entre las seis enfermedades más importantes en el Programa Especial de Investigación y Adiestramiento en Enfermedades Tropicales (TDR) de la OMS. Los fármacos disponibles actualmente presentan altas toxicidades o se han desarrollado resistencias para los mismos, de modo que buscar nuevos compuestos que posean actividad anti-leishmánica es una opción quimioterapéutica atractiva. En el presente estudio hemos utilizado la topología molecular y el análisis de regresión multilínea para el desarrollo de un modelo QSAR capaz de predecir la actividad frente a *L. major* y *L. donovani* de un grupo de compuestos derivados del pirrol [1,2- α] quinoxalina. Validados los modelos topológicos seleccionados, se ha realizado un cribado molecular y se han seleccionado nuevos derivados de la quinoxalina con potencial actividad anti-leishmánica.

*Corresponding Author: ramon.garcia@uv.es

Received: October 3, 2016 Accepted: November 7, 2016

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 317-323

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Leishmaniasis: enfermedad y epidemiología

Con el nombre de leishmaniasis se designa a un conjunto de enfermedades causadas por parásitos protozoarios del género *Leishmania* que engloba dos subgéneros: *Leishmania* (en el Viejo Mundo) y *Viannia* (en el Nuevo mundo) (1, 2). Su transmisión se produce exclusivamente por la picadura de dípteros flebotomos de los géneros *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo y *Phlebotomus* en el Viejo Mundo (3). La enfermedad en humanos se presenta bajo cuatro formas: leishmaniasis cutánea (LC), cutánea difusa (LCD), visceral o kala-azar (LV) y mucocutánea (LMC) (4, 5). Cada año se estiman 1,3 millones de nuevos casos y entre 20.000 y 30.000 muertes, según datos de la Organización Mundial de la Salud (5). La LC está más ampliamente distribuida, con aproximadamente un tercio de los casos de leishmaniosis

totales (1, 6).

Cada especie de *Leishmania* tiene un perfil epidemiológico con diferentes vectores, huéspedes reservorios y distribución geográfica (3). Así la epidemiología de la leishmaniasis es extremadamente compleja y puede verse alterada por cambios en algún punto de la triada epidemiológica (humanos, reservorios y flebotomos) (5).

La quimioterapia sigue siendo el principal tratamiento para esta enfermedad debido a la poca disponibilidad de vacunas en un futuro cercano (7). De esta forma, es imprescindible la búsqueda de nuevos fármacos contra esta enfermedad para evitar resistencias.

1.2. Tratamiento para la leishmaniasis

El tratamiento para la leishmaniasis se ha basado desde la antigüedad en el empleo de metales pesados tóxicos, concretamente los antimoniales pentavalentes como el

antimoniato de meglumina y el estibogluconato de sodio (8, 9), sin embargo estos presentan una toxicidad hepática y cardíaca elevada (5) y han desarrollado resistencia derivada de su utilización durante seis décadas, sin embargo es en los últimos 15 años cuando se han evidenciado realmente estas resistencias clínicamente, actualmente, en las zonas no tratadas previamente los pacientes responden al tratamiento pero en zonas endémicas el tratamiento no es eficaz, zonas tales como India han prohibido su utilización (9, 10). Aun así, se siguen empleando como tratamientos de primera línea en zonas endémicas (9). La anfotericina B y sus derivados lipídicos surgieron como alternativa a las resistencias desarrolladas frente a los antimoniales. Ambos presentan toxicidad, aunque los derivados lipídicos tienen una toxicidad significativamente menor que la anfotericina B (5). Se emplean como tratamientos de segunda línea y aunque hay pocos reportes de resistencias, la aparición de estas es de esperar (9), por ejemplo se describen resistencias asociadas al cambio en la composición de esteroides de las membranas de los promastigotes (10). La paromomicina es un antibiótico aminoglucósido cuya toxicidad es muy reducida (WHO), es eficaz, presenta bajo coste y el tiempo de administración es corto, lo cual lo hace un buen candidato de tratamiento de primera línea para la leishmaniasis visceral (9). Isetionato de pentamidina se emplea raramente por sus efectos adversos graves (5) y por la aparición de resistencias se cree que debido a la presencia de transportadores de pentamidinas (8, 10). La miltefosina se desarrolló inicialmente como antineoplásico oral, pero después se demostró que posee actividad anti-leishmánica. Presenta toxicidad hepatorenal y es potencialmente teratogena, por lo que no debe emplearse en embarazadas (5, 9). Además, se han reportado los primeros casos de resistencias y hay riesgo de que aparezcan más casos (9, 10). Los derivados azólicos como el ketoconazol, fluconazol, itraconazol son antifúngicos orales que presentan una eficacia variable en función de las especies y además presentan hepatotoxicidad (5, 8).

1.3. Método QSAR

Para evitar laboriosos trabajos de laboratorio en búsqueda de nuevos fármacos anti-leishmánicos, nos

servimos de técnicas englobadas dentro de la topología molecular.

La topología molecular es una nueva disciplina dentro de la topología, que analiza cuáles son las posiciones de los átomos dentro de las moléculas pero no se ocupa del estudio de aspectos como la estructura tridimensional, tipos de enlaces o ángulos entre ellos. Mediante esta disciplina, se obtiene el cálculo de índices para caracterizar estructuralmente un compuesto y poder encontrar compuestos similares (11).

Dentro de esta disciplina encontramos los métodos QSAR, que relacionan cuantitativamente la actividad de una molécula con su estructura mediante una serie de descriptores (12). Estos descriptores son el resultado final de un procedimiento de la lógica matemática, que transforma la información química, codificada dentro de una representación simbólica de una molécula, en números útiles (13) y que nos permiten calcular la actividad de una molécula mediante su estructura molecular (12).

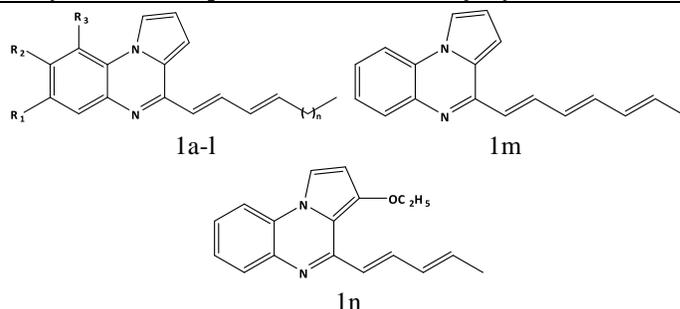
De esta forma la topología molecular ha resultado de gran utilidad para la búsqueda de nuevos fármacos antiparasitarios (14, 15) y compuestos activos frente a vectores transmisores de enfermedades parasitarias (16). Por este motivo la topología molecular es un campo muy atractivo para la búsqueda de nuevos fármacos en esta área terapéutica.

Así en este estudio se investigan las propiedades anti-leishmánicas de una serie de compuestos derivados de alcaloides quinolínicos frente a las especies de *Leishmania donovani* y *Leishmania major* con el objetivo de elaborar modelos QSAR predictivos de la actividad inhibitoria 50 (IC₅₀) mediante el empleo de la topología molecular y el análisis de regresión multilínea.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Compuestos analizados

En este estudio se trabaja con un grupo de compuestos derivados del pirrol [1,2- α] quinoxalina con propiedades anti-leishmánicas que ya han sido testadas experimentalmente de las cuales conocemos su concentración inhibitoria, IC₅₀, así como su estructura química (17) (Tabla 1).

Tabla 1. Estructura química y actividad antiparasitaria frente a *L. major* y *L. donovani* del grupo de compuestos estudiados.

Comp. N°	R ₁	R ₂	R ₃	n	IC ₅₀ (μM)	
					<i>L. major</i>	<i>L. donovani</i>
1a	H	H	H	0	4.7	9.8
1b	CH ₃ O	H	H	0	3	5.3
1c	H	CH ₃ O	H	0	2.7	5.4
1d	H	H	CH ₃ O	0	3.3	7.2
1e	H	H	H	2	3.9	7.6
1f	CH ₃ O	H	H	2	2.8	8.6
1g	H	CH ₃ O	H	2	7.4	7.6
1h	H	H	CH ₃ O	2	3.9	9.9
1i	H	H	H	3	3.7	13.7
1j	CH ₃ O	H	H	3	2.5	12.1
1k	H	CH ₃ O	H	3	4.4	14.7
1l	H	H	CH ₃ O	3	5.8	11.6
1m					1.2	10.5
1n					1.5	4
Pentamidine					4.3	5.5

2.2. Descriptores moleculares

Mediante el software de diseño de moléculas ChemDraw Professional 15.0 representamos la estructura molecular de los distintos compuestos citados anteriormente. A continuación importamos las moléculas al software DESMOL1 (18) y calculamos 62 descriptores topológicos tales como: índices de conectividad Randić-Kier-Hall hasta el cuarto orden (${}^m\chi_t$, ${}^m\chi_t^v$) (19, 20), índices de carga topológicos hasta el quinto orden (J_m , G_m , J_m^v , G_m^v) (11), cocientes y diferencias índices de conectividad de valencia y no valencia (mC_t , mD_t), índice de Wiener (W) (21), número de vértices (N), número de ramificaciones (R), pares de ramificaciones que están separados a distancias 1, 2 y 3 (PR_x), longitud máxima que se puede establecer entre distintos vértices (L) y número de vértices con valencias 3 y 4 (V_x) (22).

2.3. Algoritmos QSAR: Análisis de regresión multilínea

Utilizando los índices topológicos como variables independientes y la actividad anti-leishmánica, IC₅₀, en su transformación logarítmica, pIC₅₀ = -logIC₅₀, como variable dependiente, se realizó un análisis de regresión

multilínea utilizando el software STATISTICA 8.0. (23), para obtener los modelos topológicos de predicción de actividad frente a *L. donovani* y *L. major*. El criterio seguido para la selección de variables fue usar la agrupación con menos variables, coeficiente de correlación, R², más alto y el menor error estándar de estimación, EEE.

Para validar la función de predicción seleccionada realizamos un test de validación interna basado en una cros-validación del tipo "leave-one-out". Para ello, cada compuesto se elimina del modelo y se recalcula su valor de actividad pIC₅₀ con los restantes compuestos y los descriptores de la ecuación de regresión seleccionada. El proceso se repite tantas veces como compuestos se estudian. Con los valores predichos se determina el coeficiente de predicción Q² y se compara con el R². Valores de Q² > 0.700 son indicativos de una buena calidad del modelo seleccionado. Para el test de aleatoriedad, los valores de la propiedad se intercambian entre las moléculas de forma aleatoria y se recalculan R² y Q². El modelo se considera estable si se obtienen valores de R² y Q² muy bajos y lejanos a los del modelo de regresión seleccionado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Llevamos a cabo la búsqueda de un modelo topológico-matemático que permitiera predecir la actividad anti-leishmánica de un total de 14 compuestos (Tabla 1) en base a su estructura molecular. Las ecuaciones de predicción seleccionadas para pIC₅₀ de los 14 compuestos frente a *L. donovani* y *L. major* junto con la información estadística fueron:

$$\text{pIC}_{50} (L. donovani) = 6.35 + 1.03 \text{ }^2\chi - 2.03 \text{ }^3\chi_p^v$$

Eq. 1

N=14 R²=0.846 Q²=0.743 EEE=0.070
 F=30.2 p=0.00003

$$\text{pIC}_{50} (L. major) = -15.11 + 1.30 \text{ }^0\chi + 0.55 \text{ G}_2^v - 9.31 \text{ G}_4^v +$$

$$161.66 \text{ J}_4^v \text{ Eq. 2}$$

N=14 R²=0.869 Q²=0.765 EEE=0.092
 F=14.8 p<0.009

Como puede observarse, tanto para *L. donovani* como *L. major* los valores del coeficiente de predicción, R², son superiores a 0.800 y con errores estándar de estimación, SEE, entre el 11 y el 12 % del intervalo en el que se mueve pIC₅₀. Además ambos modelos presentan una significación estadística superior al 99 %.

Las Tablas 2 y 3 muestran el valor de los índices topológicos seleccionados así como los valores de predicción de pIC₅₀ obtenidos para cada compuesto. Como puede observarse, la predicción es bastante aceptable.

Tabla 2. Resultados de predicción obtenidos para *L. donovani*.

Comp. N°	² χ	³ χ _p ^v	pIC ₅₀ obs	pIC ₅₀ calc	pIC ₅₀ calc (vc)
1a	4.598	2.951	5.01	5.10	5.16
1b	5.286	3.252	5.28	5.20	5.19
1c	5.286	3.252	5.27	5.20	5.19
1d	5.243	3.248	5.14	5.16	5.16
1e	5.289	3.350	5.12	5.00	4.98
1f	5.977	3.651	5.07	5.10	5.11
1g	5.977	3.651	5.12	5.10	5.10
1h	5.934	3.647	5.00	5.06	5.07
1i	5.643	3.619	4.86	4.82	4.80
1j	6.331	3.920	4.92	4.92	4.92
1k	6.331	3.920	4.83	4.92	4.95
1l	6.287	3.916	4.94	4.88	4.87
1m	4.983	3.173	4.98	5.05	5.06
1n	5.639	3.332	5.40	5.40	5.41

Tabla 3. Resultados de predicción obtenidos para *L. major*.

Comp. N°	⁰ χ	G ₂ ^v	G ₄ ^v	J ₄ ^v	pIC ₅₀ obs	pIC ₅₀ calc	pIC ₅₀ calc(vc)
1a	10.506	11.759	1.743	0.103	5.33	5.33	5.33
1b	12.135	12.115	2.125	0.112	5.52	5.59	5.62
1c	12.135	12.115	2.236	0.118	5.57	5.50	5.48
1d	12.135	12.264	2.317	0.122	5.49	5.52	5.55
1e	11.920	11.870	1.894	0.100	5.41	5.36	5.34
1f	13.550	12.226	2.276	0.108	5.55	5.52	5.51
1g	13.550	12.226	2.387	0.114	5.13	5.34	5.37
1h	13.550	12.375	2.468	0.118	5.41	5.29	5.25
1i	12.627	11.870	1.934	0.097	5.43	5.42	5.42
1j	14.257	12.226	2.316	0.105	5.60	5.56	5.53
1k	14.257	12.226	2.427	0.110	5.36	5.34	5.34
1l	14.257	12.375	2.508	0.114	5.24	5.27	5.28
1m	11.660	13.537	1.886	0.099	5.92	5.94	6.07
1n	12.842	13.748	2.698	0.135	5.82	5.80	5.74

Las Figuras 1 y 2 muestran las representaciones gráficas de predicción de la actividad así como los residuales obtenidos para cada compuesto frente al valor experimental tanto para *L. donovani* como para *L. major*.

El intervalo de ordenadas corresponde con valores de $\pm 1\text{EEE}$, $\pm 2\text{EEE}$ y $\pm 3\text{EEE}$. Para *L. donovani*, todos los compuestos muestran residuales inferiores a $\pm 2\text{EEE}$, lo que significa que el modelo topológico seleccionado es predictivo para los 14 compuestos (ver Figura 1).

El modelo para *L. major*, no sería predictivo para el

compuesto **1g** al mostrar un residual ligeramente superior a 2EEE .

Todo ello viene reflejado por el número de variables incluidas en cada modelo. Para *L. donovani* sólo es necesaria la presencia de índices topológicos de conectividad (${}^2\chi$ y ${}^3\chi_p^v$) mientras que para *L. major* aparecen además, índices topológicos de carga (G_2^v , G_4^v y J_4^v) que tienen en cuenta la distribución de la carga intramolecular).

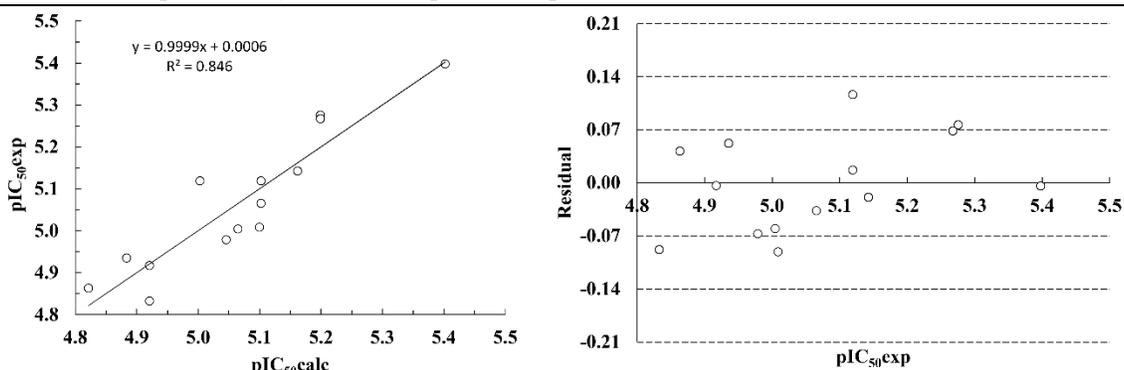


Figura 1. Representaciones gráficas de $\text{pIC}_{50}\text{exp}$ frente a $\text{pIC}_{50}\text{calc}$ y Residual frente a $\text{pIC}_{50}\text{exp}$ obtenidas a partir del modelo topológico seleccionado para *L. donovani*.

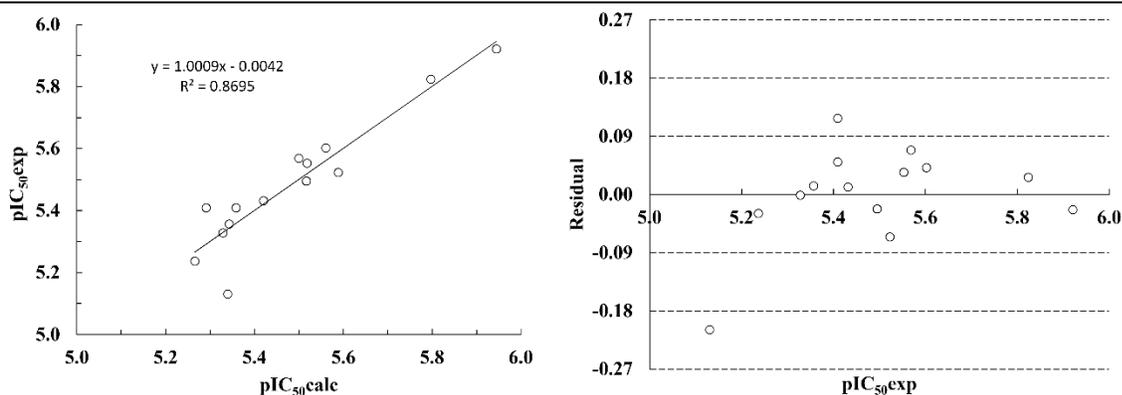


Figura 2. Representaciones gráficas de $\text{pIC}_{50}\text{exp}$ frente a $\text{pIC}_{50}\text{calc}$ y Residual frente a $\text{pIC}_{50}\text{exp}$ obtenidas a partir del modelo topológico seleccionado para *L. major*.

La validación de ambos modelos, Eq. 1 y Eq. 2 se ha realizado en dos etapas: una validación interna (validación cruzada tipo leave one out) y un test de aleatoriedad. La primera mostraba valores de Q^2 superiores a 0.70 (0.743 y 0.765 para *L. donovani* y *L. major*, respectivamente) lo que indica una buena calidad predictiva de ambos modelos. El test de aleatoriedad se muestra en la Figura 3.

Como puede observarse, ambos modelos son estables y no aleatorios. En ambos casos, sólo cuando a cada compuesto se le asigna el valor real de pIC_{50} los coeficientes de correlación y predicción (R^2 y Q^2) son elevados (ver punto negro en ambas gráficas). Cuando a cada compuesto se le asigna un valor arbitrario de pIC_{50} , la regresión obtenida es siempre muy baja (puntos blancos).

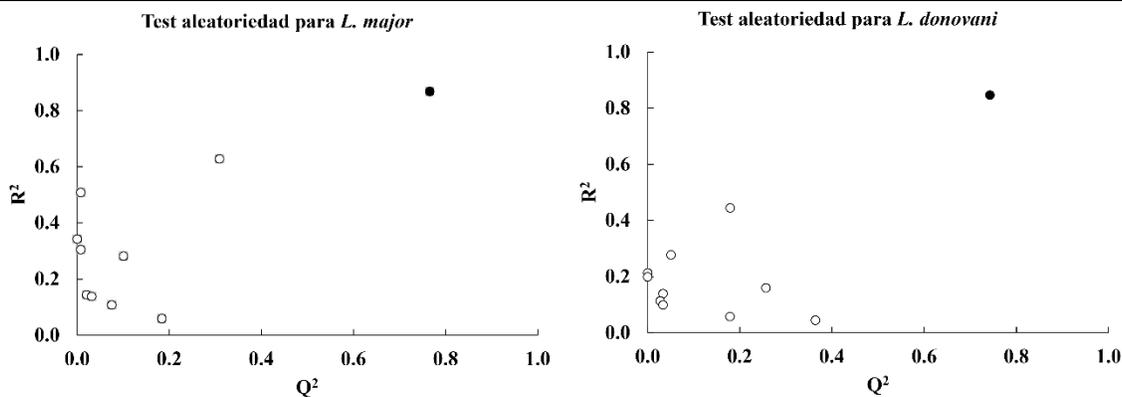
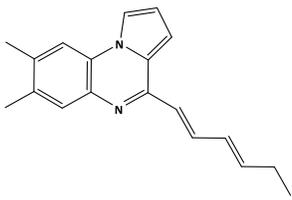
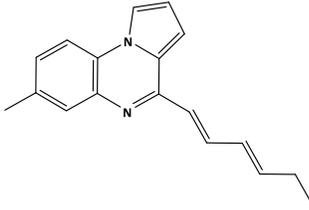
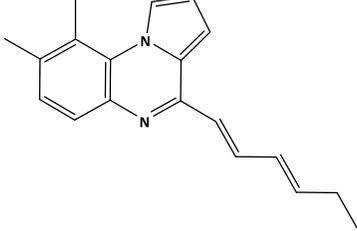
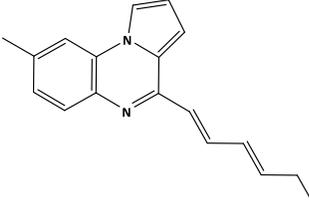


Figura 3. Test de aleatoriedad para los modelos de predicción seleccionados con *L. donovani* y *L. major*.

Una vez seleccionados los modelos de predicción de la actividad anti-leishmánica frente a *L. donovani* y *L. major*, y a la vista de los resultados obtenidos nos preguntamos si podíamos predecir la actividad anti-leishmánica de otros compuestos similares a los antes mencionados realizando pequeñas modificaciones sobre la estructura de partida. En este trabajo presentamos un pequeño cribado molecular realizado con nuevos derivados del pirrol [1,2-*a*] quinoxalina. La Tabla 4 muestra, como ejemplo, las estructuras químicas de cuatro moléculas junto con los

valores predichos de IC_{50} . Las modificaciones estructurales han sido simplificar la estructura molecular al sustituir los grupos metoxi por metilos. Frente a *L. major*, todas ellas son, teóricamente, bastante activos; $IC_{50} < 1 \mu\text{m}$. En cambio frente a *L. donovani* sólo se ha podido predecir actividad anti-leishmánica, $IC_{50} < 10 \mu\text{m}$ para las moléculas II y IV. El siguiente paso sería la síntesis de estos nuevos compuestos y realizarles los correspondientes ensayos de actividad frente a *L. donovani* y *L. major*.

Tabla 4. Estructura química de los nuevos compuestos seleccionados potencialmente activos frente a *L. donovani* y *L. major*.

 <p style="text-align: center;">N° I $IC_{50(L. donovani)}=27.3 \mu\text{M}$ $IC_{50(L. major)}=0.3 \mu\text{M}$</p>	 <p style="text-align: center;">N° II $IC_{50(L. donovani)}=8.8 \mu\text{M}$ $IC_{50(L. major)}=0.74 \mu\text{M}$</p>
 <p style="text-align: center;">N° III $IC_{50(L. donovani)}=43.3 \mu\text{M}$ $IC_{50(L. major)}=0.27 \mu\text{M}$</p>	 <p style="text-align: center;">N° IV $IC_{50(L. donovani)}=8.8 \mu\text{M}$ $IC_{50(L. major)}=0.90 \mu\text{M}$</p>

4. CONCLUSIONES

En este estudio hemos utilizado la topología molecular para la búsqueda de un modelo QSAR capaz de predecir la actividad anti-leishmánica de ciertos compuestos derivados de alcaloides quinoxalínicos. Todos los descriptores moleculares usados son gráfico-teóricos. El modelo matemático diseñado es capaz de predecir la IC_{50}

de los diferentes compuestos analizados frente a dos especies de *Leishmania* utilizando distintos índices topológicos que muestran una mayor correlación con la propiedad estudiada (IC_{50}). Por tanto, consideramos que se pueden aplicar a la búsqueda de nuevos compuestos. Finalmente, hemos aplicado el modelo matemático para la búsqueda de nuevos compuestos teóricamente activos.

Algunos de los cuales resultaron poseer una buena actividad anti-leishmánica para la especie *L. major*. Consideramos que estos resultados son alentadores y animan a proseguir con futuras investigaciones para la búsqueda de fármacos anti-leishmánicos.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Máster en Enfermedades Parasitarias Tropicales de la Facultad de Farmacia de la Universitat de València por los medios y ayuda prestados en el desarrollo y preparación del trabajo.

6. REFERENCIAS

1. Ovalle CE, Porras L, Rey M, Ríos M, Camargo YC. Distribución geográfica de especies de *Leishmania* aisladas de pacientes consultantes al Instituto Nacional de Dermatología Federico Lleras Acosta, E.S.E., 1995-2005. *Biomédica* 2006;26:145-151.
2. Grimaldi G, Jr, Tesh RB. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clin Microbiol Rev* 1993 Jul;6(3):230-250.
3. Barreto M, Burbano ME, Barreto P. Registros de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en nuevas localidades de Colombia. *Colomb Médica* 2006;37(1):39-45.
4. Desjeux P. Human leishmaniasis: epidemiology and public health aspects. *World Health Stat Q* 1992;45(2-3):267-275.
5. WHO. Control of the leishmaniasis: Report of a meeting of the WHO expert committee on the control of leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.
6. Alvar J, Velez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 2012;7(5):e35671.
7. Datta AK, Datta R, Sen B. Antiparasitic Chemotherapy: In: Majumder HK, editor. *Drug Targets in Kinetoplastid Parasites* New York, NY: Springer New York; 2008. p. 116-132.
8. Pace D. Leishmaniasis. *J Infect* 2014 Nov;69 Suppl 1:S10-8.
9. Mohapatra S. Drug resistance in leishmaniasis: Newer developments. *Trop Parasitol* 2014 Jan;4(1):4-9.
10. Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* 2006 Jan;19(1):111-126.
11. Galvez J, Garcia R, Salabert MT, Soler R. Charge Indexes. New Topological Descriptors. *J Chem Inf Comput Sci* 1994 05/01;34(3):520-525.
12. Garcia-Domenech R, Galvez J, de Julian-Ortiz JV, Pogliani L. Some new trends in chemical graph theory. *Chem Rev* 2008 Mar;108(3):1127-1169.
13. Todeschini R, Consonni V. (2000) *Handbook of Molecular Descriptors*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany 2000;11:1-667.
14. Mahmoudi N, Garcia-Domenech R, Galvez J, Farhati K, Franetich J.F, Sauerwein R, et. al. New active drugs against liver stages of *Plasmodium* predicted by molecular topology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008; 52(4):1215-1220.
15. Guzmán Fernández B, Zanni R, Pellicer M, Galvez-Llompарт M, García-Domenech R. Aplicación de la topología molecular en la búsqueda de nuevos compuestos derivados del 4-nitroimidazol activos frente al *Tripanosoma brucei*. *An Real Acad Nac F.* 2012; 78(4): 447-462.
16. García-Domenech R, Aguilera J, El Moncef A, Pocovi S, Gálvez J. Application of molecular topology to the prediction of mosquito repellents of a group of terpenoid compounds. *Molecular Diversity*. 2010;14: 321-329.
17. Ronga L, Del Favero M, Cohen A, Soum C, Le Pape P, Savrimoutou S, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-alkapolyenylpyrrolo[1,2- α]quinoxalines as antileishmanial agents--part III. *Eur J Med Chem* 2014 Jun 23;81:378-393.
18. DESMOL1 Software. Unidad de Investigación de Diseño de Fármacos y Conectividad Molecular. Facultad de Farmacia Universitat de Valencia, Spain.
19. Kier LB, Hall LH. Molecular connectivity VII: specific treatment of heteroatoms. *J Pharm Sci* 1976 Dec;65(12):1806-1809.
20. Kier LB, Hall LH. General definition of valence delta-values for molecular connectivity. *J Pharm Sci* 1983 Oct;72(10):1170-1173.
21. Wiener H J. Structural determination of paraffin boiling points. *Journal of the American Chemical Society* 1947;69(1): 17-20.
22. Galvez J, Garcia-Domenech R, De Julian-Ortiz V, Soler R. Topological approach to analgesia. *J Chem Inf Comput Sci* 1994 Sep-Oct;34(5):1198-1203.
23. Statistica 8.0 (2008) Statsoft Inc <http://www.statsoft.com>



Notarial documents of apothecary apprentice in Madrid during the period from the 16th-17th centuries

Title in Spanish: *Las escrituras de aprendiz de boticario en la villa de Madrid durante los siglos XVI-XVII*

Rosa Basante Pol^{1,*}, María Jesús Lozano Estevan²

¹Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia. ²Becaria de la Fundación Rafael Foch.

ABSTRACT: The Apothecaries in Castile, from the Low Middle Ages, in which it took place in Europe the legal separation of the Medicine and the Pharmacy, in the absence of Schools in which formed did, practically until the first years of the nineteenth century in which the Royal Colleges of Pharmacy are created in order to formed apothecaries that in the apothecaries's drugstores and they were examined by the Royal Court of *Protomedicato*. The years of practice enforceable in Court, during the period from the sixteen century to seventeen century, to be examined before the Court concerned and obtain administrative license to open own apothecary or work as officer of a companion were, according to the provisions, usually four. Although this fact is widely believed it is not less true that if had been studied primary sources, not had been published, nor the qualifications to teacher and learner. The discovery and analysis of several notarial documents of apprentice apothecary, of the centuries that we are studying, preserved in the Historical Archive of Protocols of Madrid, that if they knew had not been studied or published previously, allow us to meet the contractual framework of learning the craft and art of the apothecary, unless during that period.

RESUMEN: Los boticarios en Castilla, desde el bajo medioevo en que se produce en Europa la separación legal de la Medicina y la Farmacia, al no existir centros docentes en los que formarse, lo hicieron, prácticamente hasta los primeros años del siglo XIX en que se crean los Reales Colegios de Farmacia, en la botica de un boticario examinado por el Real Tribunal del Protomedicato. Los años de práctica exigibles en la Corte, durante los siglos XVI-XVII, para poder examinarse ante el referido Tribunal y obtener de la licencia administrativa para abrir botica propia o trabajar como oficial en la de un compañero eran, según lo dispuesto, generalmente cuatro. Aunque este dato es creencia generalizada no es menos cierto que si habían sido estudiadas fuentes primarias, no habían sido publicadas, ni tampoco las condiciones exigibles a docente y discente. El hallazgo y análisis de varias escrituras notariales de aprendiz de boticario, de los siglos antedichos, conservadas en el Archivo Histórico de Protocolos de Madrid, que si se conocían no habían sido estudiadas ni publicadas con anterioridad, nos permiten conocer el marco contractual del aprendizaje del oficio y arte de boticario, al menos durante ese periodo.

*Corresponding Author: rbasante@ucm.es

Received: November 8, 2016 Accepted: November 14, 2016

An Real Acad Farm Vol. 82, Nº 3 (2016), pp. 324-337

Language of Manuscript: Spanish

1. A MODO DE PROEMIO

Durante muchos siglos Farmacia y Medicina fueron profesiones ejercidas por una misma persona. El médico que diagnostica prepara también artesanalmente los medicamentos para el enfermo necesitado de ellos. Sirva de ejemplo el gran Galeno, "padre de la Farmacia Científica", iniciador de la farmacología racional, médico de emperadores romanos, del cual se dice tenía su medicatrina en la romana Vía Apia y en ella elaboraba fármacos para sus pacientes. La separación legal de la Medicina y la Farmacia no se produce en Europa hasta el bajo medioevo, al promulgarse en 1240 las *Ordenanzas Medicinales* del rey Federico II, para el reino de las dos Sicilias¹, considerada como la carta fundacional de la Farmacia en el mundo. Causas de tipo científico, religioso y económico social fueron decisivas para esta separación.

Conviene recordar que en esta separación los boticarios

no nacen como médicos especializados, en la elaboración de medicamentos sino como artesanos que, para el ejercicio de su actividad, no van a disponer, como si tuvieron los médicos, hasta el siglo XIX de centros docentes, con planes de estudios normalizados, en los que adquirir los conocimientos necesarios para el ejercicio profesional, estos los adquirirán mediante la práctica y el estudio en la botica de otro compañero que será su maestro, por eso hasta la entrada en la Universidad los boticarios han de someterse a la tutela científica de aquellos.

El ejercicio profesional farmacéutico durante los siglos XVI-XVIII respondía a una estructura gremial. Gremios y cofradías agruparon a estos profesionales dando origen a los diferentes Colegios de Farmacéuticos: Barcelona, Valencia, Zaragoza..., cuyas finalidades eran principalmente profesionales, es decir, defender a sus

miembros de la competencia, que paulatinamente fueron evolucionando a las científico-profesionales. El autogobierno fue la característica primordial de estas corporaciones, y el control del ejercicio profesional, en todas sus vertientes, la anhelada meta y casi una realidad. La estructura gremial se mantiene; aprendices, oficiales y maestros podían convivir en una misma botica.

La declaración, por Real Cédula de 13 de marzo de 1650 firmada por el rey Felipe IV, de la Farmacia como “Arte científica” fue un importante paso, pues se reconocía a la Farmacia como eso y no como arte manual, pero en esta disposición se sigue señalando al “ejercicio de dichos boticarios como dependientes de la Medicina...”² Y aunque cambió el estatus profesional al dejar de ser considerados como miembros de los gremios menores, amén de la exención de impuestos de “Cientos” y “Alcabalas” en lo tocante a medicamentos compuestos y otras prerrogativas y honras, los boticarios siguieron siendo unos artesanos con un sistema de enseñanza gremial.

En Castilla hasta el primer tercio del siglo XVIII no hubo Colegio de Boticarios³ pero los boticarios madrileños se agruparon en dos cofradías religiosas: la Congregación de Nuestra Señora de las Desamparados y la del Glorioso Evangelista San Lucas que, en 1721, se fusionaron en una, que, como la práctica totalidad de las cofradías madrileñas del XVIII, era una asociación de laicos dotados de carácter autónomo con vinculación administrativa con el vicario eclesiástico y no con los poderes civiles. No olvidemos el cumplimiento, en caso necesario, de las necesarias funciones socio asistenciales de sus miembros: misa por los difuntos, asistencia a los más necesitados, viudas y huérfanos, etc., era uno de sus objetivos.

El ejercicio profesional exigía pertenecer a las referidas corporaciones, para cuyo acceso el aspirante, aprendiz, habría de superar un examen tras haber realizado un periodo de prácticas, variable de 6 a 8 años, en la botica de un boticario examinado el cual tenía que expedir el correspondiente certificado de que el discípulo estaba capacitado para realizar la exigible prueba, examen que una vez superado le permitía instalarse por su cuenta con las limitaciones propias de cada región.

Sin menoscabo de lo antedicho el auténtico órgano Rector durante más de tres siglos, XVI-XIX, de las profesiones sanitarias fue el Real Tribunal del Protomedicato⁴ que, desde 1477, ejercía la dirección de las enseñanzas, exámenes y demás asuntos gubernativos de la Medicina, la Cirugía y la Farmacia. No obstante, en lo referente a la Farmacia, solo en Castilla tuvo competencias desde su creación; en los demás Reinos lo hace a partir del

siglo XVIII.

Respecto a la Farmacia, para el ejercicio de la actividad profesional, exigía la superación de un examen ante los miembros del Real Tribunal del Protomedicato, tras haber realizado el aspirante los años de práctica requeridos y el cumplimiento de otros requisitos como edad mínima, limpieza de sangre.... Esto en teoría, porque en la práctica eran muchos los desmanes. Por ello en las Cortes de Madrid de 1528 en la petición nº 124 de sus procuradores⁵ se suplica no ejerzan sin haber superado el examen, petición reiterada en 1563 añadiendo que:

[...] a los boticarios no se les admitiese al examen sin saber latín y presentar testimonio de haber practicado cuatro años cumplidos con boticario examinado...

Petición reiterada, en las mismas Cortes, y en la Pragmática de 1588, capítulo 17, se dispone que: “serán examinados los boticarios en la botica de los dichos Hospitales o en otra cual les pareciera...al cual examen asistía un Boticario qual fuere nombrado...”⁶.

Es decir, a partir de esta fecha en el Tribunal constituido hasta entonces por médicos se incluye, para el examen de los boticarios, a un boticario que además no podrá examinar a ninguno de los que con él hubiesen aprendido el arte de boticario.

De nuevo las Ordenanzas de Madrid para los boticarios de esta villa, dictadas por Felipe II inciden en este punto añadiendo que:

[...] el examinador no podría llevar a examen a platicantes, porque con la afición que los tienen los quieren examinar y sacar aprobados, aunque no sean idóneos para ello.

Este requisito se mantuvo en Castilla hasta bien avanzado el S. XVIII, aunque no es menos cierto su incumplimiento y los excesos de licencias. El hallazgo de varias escrituras notariales de aprendiz de boticario, inéditas hasta este momento, nos permite corroborar el precedente aserto, amén de conocer los requisitos exigibles a maestro y aprendiz.

2. LAS ESCRITURAS DE APRENDIZ DE BOTICARIO

La primera de las escrituras por nosotros estudiadas es la otorgada en Madrid, el 14 de septiembre de 1546, ante el escribano Gómez de Peñalosa, por Francisco Román, para que su hijo Pedro aprenda el oficio de boticario con Alonso de Rojas⁷, boticario establecido en la villa de Madrid (**Figura 1**).

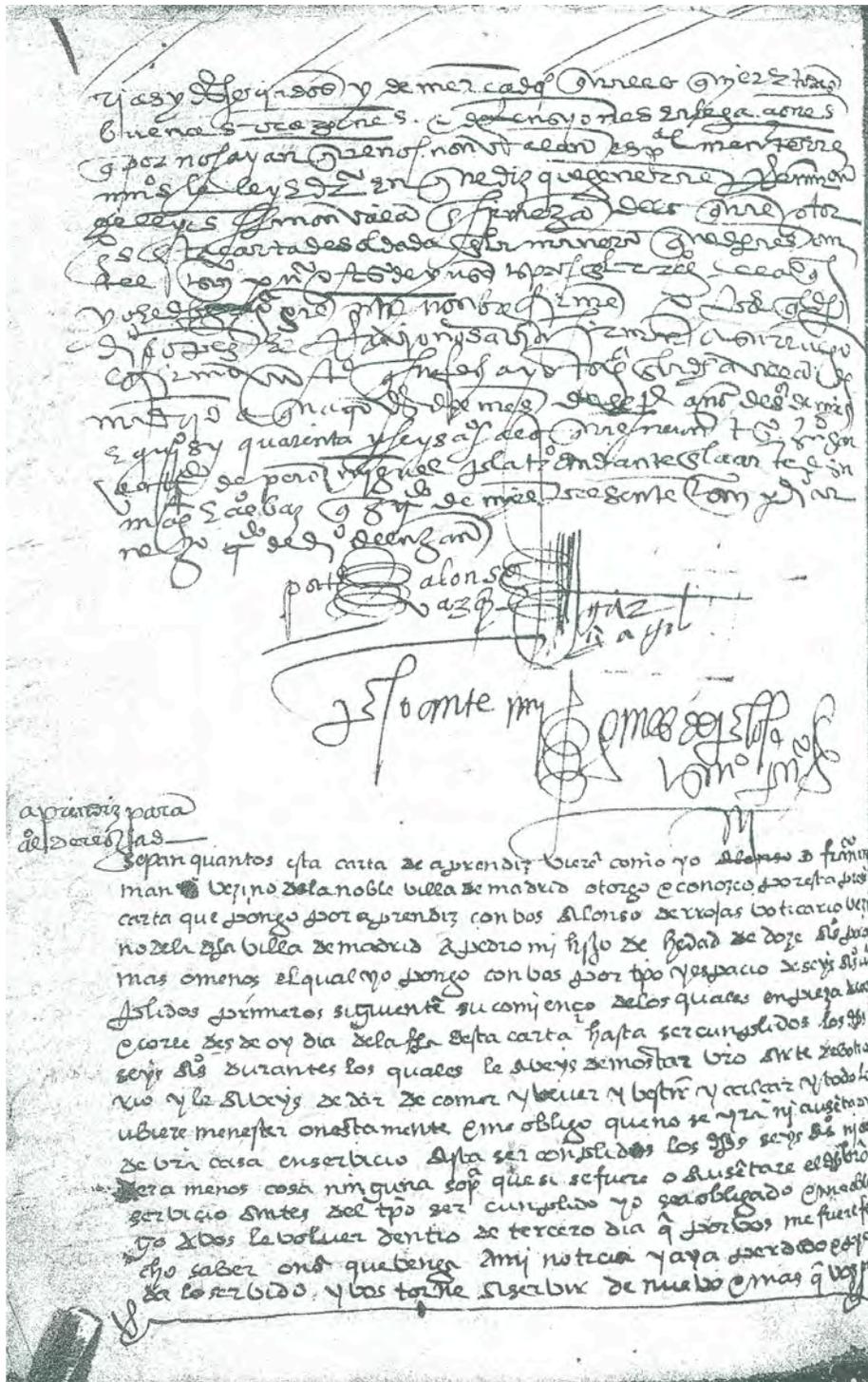


Figura 1. AHPM. T: 201, fols. 567r-568v.

Las condiciones establecidas en este documento son las siguientes: Francisco Román pone a su hijo Pedro, de “hedad de doce años poco mas o menos” por aprendiz con Alonso de Rojas por espacio de seis años, durante los cuales el boticario le ha de dar de comer, beber, vestir y calzar y “todo lo que ubiere menester honestamente” y mostrarle el arte de boticario en esos años, durante los cuales no podrá echarle del servicio, y enseñarle el oficio, y de no hacerlo se responsabilizará y habrá de pagar hasta que estuviere el aprendiz formado:

[...] Si por mi negligencia o culpa le dexare de deprender e mas que de mi costa le de ansi mismo lo que uviere menester...

A su vez el discípulo estará obligado a servir al boticario y no ausentarse de la casa durante esos seis años, y si lo hiciera el padre tendrá que buscarle y traerle de nuevo en el plazo de los tres días siguientes a tener conocimiento de su marcha, y por supuesto a pagar todas las costas y daños causados.

En síntesis seis años de aprendiz, sin que en este periodo pueda irse a otra botica, y obligación del maestro de tenerlo en su casa, darle de comer, beber, cama, vestir, calzar, curarle las enfermedades no contagiosas por un determinado periodo de tiempo y, sobre todo, enseñarle el arte y oficio de boticario para que sometiéndose al preceptivo examen lo supere y en caso contrario el boticario asumirá su responsabilidad como docente y tendrá que seguirle enseñando y, además, pagarle el salario

igual al de un oficial .

La segunda de las escrituras analizadas es la otorgada el 18 de septiembre de 1612⁸, ante el escribano Matheo de Ávila, por Agustín y Amador Allué, hermanos residentes en la villa de Madrid, y Diego de Villaizán, boticario establecido en la Corte, miembro de la Congregación y Colegio del Señor San Lucas y Nuestra Señora de la Purificación⁹ (Figura 2).

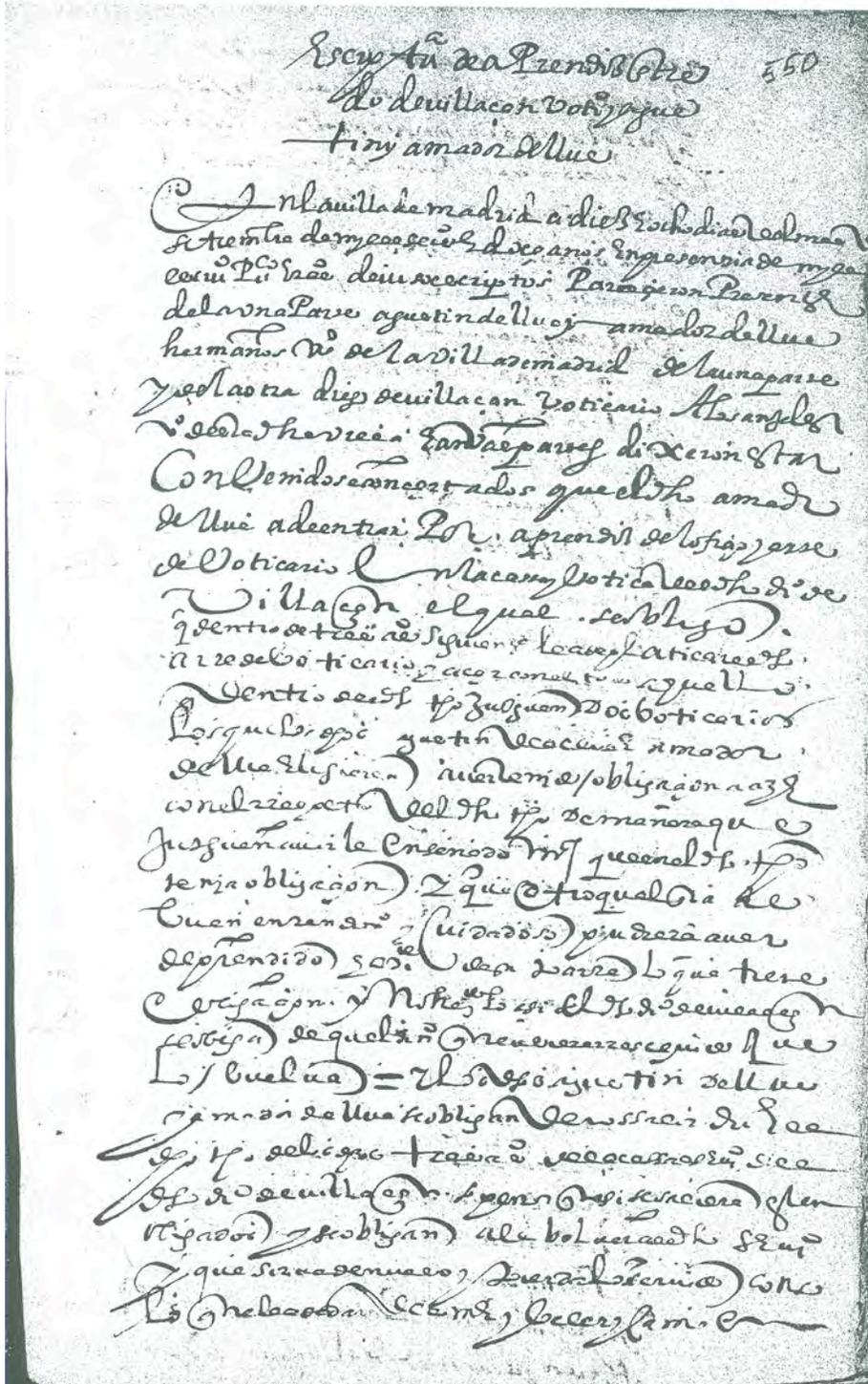


Figura 2. AHPM. T: 2748, fols. 550r-551v.

¿A qué se comprometen ambas partes? Los primeros a que Amador Allué entre por aprendiz del oficio y arte de boticario, por un periodo de tres años, en la casa botica de Diego de Villaizán, de la cual no podrá ausentarse durante los dichos años de aprendizaje, y si lo hiciere le tienen que devolver al dicho servicio, debiendo pagarle por la formación recibida al boticario trescientos reales:

[...] que hacen diez mil y doscientos maravedíes, la mitad dellos dentro deste mes/ contando desde oy dia de la fecha desta carta adelte/ y la otra mitad dentro de un año desde oi dicho dia...

A su vez Diego de Villaizán se compromete a recibir al aprendiz en su casa, a darle de comer, beber y cama, vestir y calzar y adorno para su persona por cuenta de este y, si durante el periodo de aprendizaje el discente sufre algunas enfermedades, el boticario se las ha de curar a su costa, medicinas incluidas, siempre que ninguna de ellas excedan de veinte días, y lo más importante que, además de buen trato, ha de darle la enseñanza exigible para que:

[...] dentro de tres años a de platicar el dicho arte de boticario y açer con el todo aquello que dentro del dicho tiempo juzguen dos boticarios... de manera que juzguen avil e enseñado mas que en el dicho tiempo tenia obligación...y no haciéndolo asi el dicho Diego de Villaizan se obliga de quel dinero que uverie resçebido que lo vuelva...

En resumen tres años de práctica del aprendiz, iguales condiciones que en la escritura antes referida, sobre todo responsabilidad del Maestro en la formación del discípulo, aunque en este caso aquel percibirá una cantidad por ello, trescientos reales, que tendrá que devolver si el discente no supera el obligado examen que le habilite para el ejercicio profesional.

Una nueva escritura de “asiento de serbiçio de aprendiz del arte de boticario” es la otorgada en Madrid el 18 de junio de 1623, ante el escribano Juan de Xerez, por

Francisco Izquierdo de Franco, vecino de la villa de La Puebla, obispado de Cuenca, en virtud del poder que tiene de Águeda Serrano para que el hijo de esta, Miguel de Ruidiez, menor de edad, así mismo vecino de la Puebla, entre de aprendiz de boticario con Juan de Urquizu boticario establecido en la Corte¹⁰ (**Figura 3**).

Las condiciones a las que se obligan los otorgantes son similares al documento anteriormente analizado, tres años de aprendizaje, obligación del aprendiz de servir al boticario y no ausentarse de su casa en el dicho tiempo y, en el caso de hacerlo, obligación de sus fiadores de devolverlo de nuevo y proporcionarle calzado y vestido. Debiendo pagar al boticario por el servicio prestado quinientos reales de vellón.

Por su parte Juan de Urquizu se obliga durante esos años a dar al aprendiz:

[...] de comer, cama y ropa limpia, a curarle cualquier enfermedad siempre que no pasen de quinze días y sean contagiosas, y lo primordial a enseñarle el oficio de boticario de manera que venga a estar en el abil y suficiente para que se pueda examinar/ y no estando capaz para ello le ha de tener en su casa acabandole de enseñar el oficio y le a de dar e pagar el salario que se da a los mancebos que están examinados en esta corte...

De nuevo, como en la escritura anterior, el aprendiz que no es residente en la Corte, sino que viene a aprender el oficio y arte de boticario desde La Puebla (obispado de Cuenca), habrá de estar tres años en casa del boticario de la cual no podrá ausentarse y por el servicio prestado abonar al Maestro 500 reales de vellón. La responsabilidad del boticario inexcusable en tanto en cuanto a la formación necesaria para superar el alumno el obligado examen y en caso contrario asunción de seguir manteniéndole en su casa abonándole idéntico salario que a un mancebo examinado.

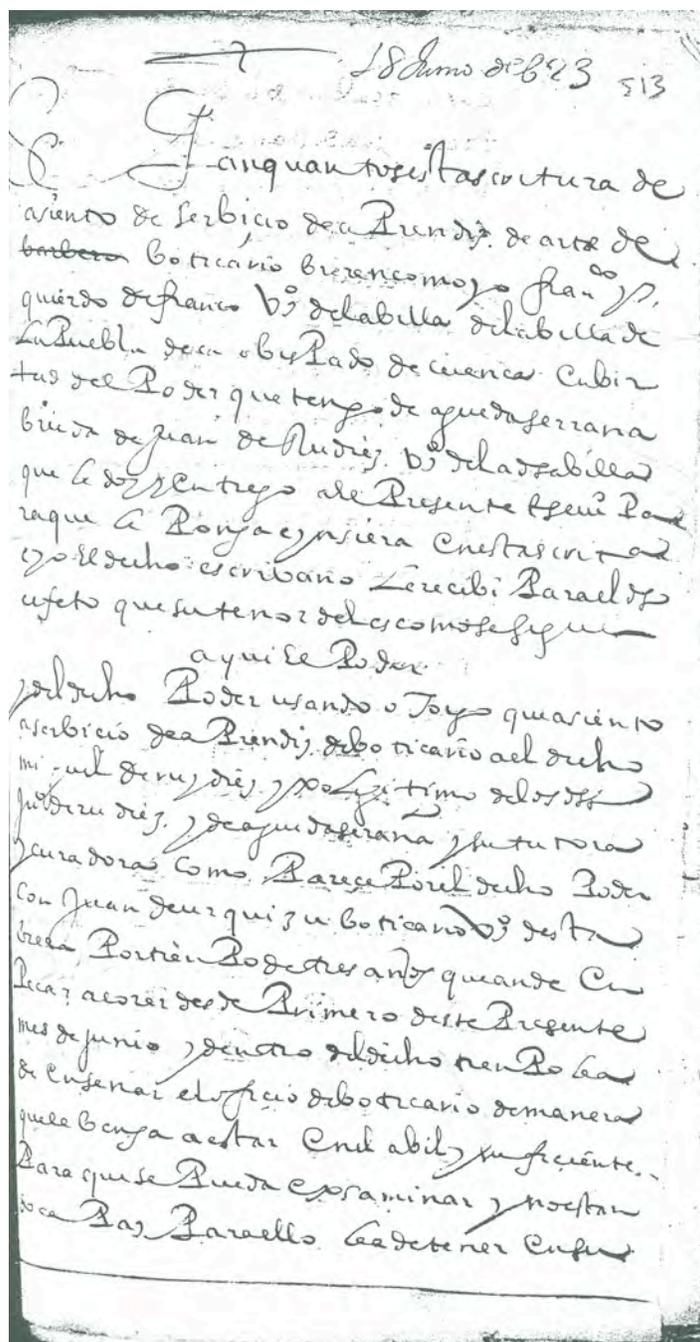


Figura 3. T: 4915, fols. 513r-514v.

Las dos siguientes escrituras se otorgan, también en Madrid, en 1636, a Pedro Gutiérrez de Arévalo para formar en su botica, de la madrileña calle de Atocha, a dos aprendices para que puedan superar el examen que les ha de permitir el ejercicio del arte de boticario.

La primera de ellas es obligación y contrato, el 26 de abril de 1636, ante Juan Montoya Torrecilla¹¹, de asiento de aprendiz de Pascual Porrón de la Herrán con Pedro Gutiérrez de Arévalo, boticario (**Figura 4**). Los términos establecidos en este documento son los siguientes:

Por quanto de esta carta de obligación y concierto como nos Pedro Gutierrez de Arevalo boticario vecino de

esta villa----- y de la otra Pascual Porrón de la Herrán vecino y natural de la Villa de Castro Urdiales una de las cuatro de la costa del mar de Castilla mayor que confieso ser de veinticinco años, del modo que estamos convenidos y concertados en que yo el dicho Pedro Gutierrez me obligo de tener en mi casa al dicho Pascual Porrón por tiempo de dos años y medio que empiezan a correr y contarse desde principios de mayo y que en este tiempo le haya de dar de comer, cama , ropa limpia y haberle enseñado suficiente para que al cabo del dicho tiempo se pueda examinar en el arte de boticario y no lo haciendo le serán en mi casa todo el tiempo que fuere necesario en tanto este suficiente preparado para el examen y le pagaré

el salario que se acostumbra a dar a un oficial y en el este tiempo no lo despidiré ni le echaré de mi casa ni le haré mal tratamiento.....por cuanto yo el dicho Pascual Porrón le he de dar y pagar quarenta ducados por las dichas enseñanzas en moneda de vellón usual y corriente, en esta manera los veinte primeros luego de contratado... Y los otros veinte ducados yo Pascual Porrón los pagare a los seis meses siguientes a esta escritura. Y me obligo a

servir y asistir los dos años y medio sin ausentarme de la dicha casa y botica de Pedro Gutierrez con toda puntualidad y cuidado sin poderme ausentarme y no me llevar bienes ningunos de la dicha casa y si por mi culpa o negligencia de la botica y su casa faltare alguna cosa o la quebrare lo pagare y si en este tiempo tiene una enfermedad me las han de curar por tiempo de diez semanas si no sean contagiosas...

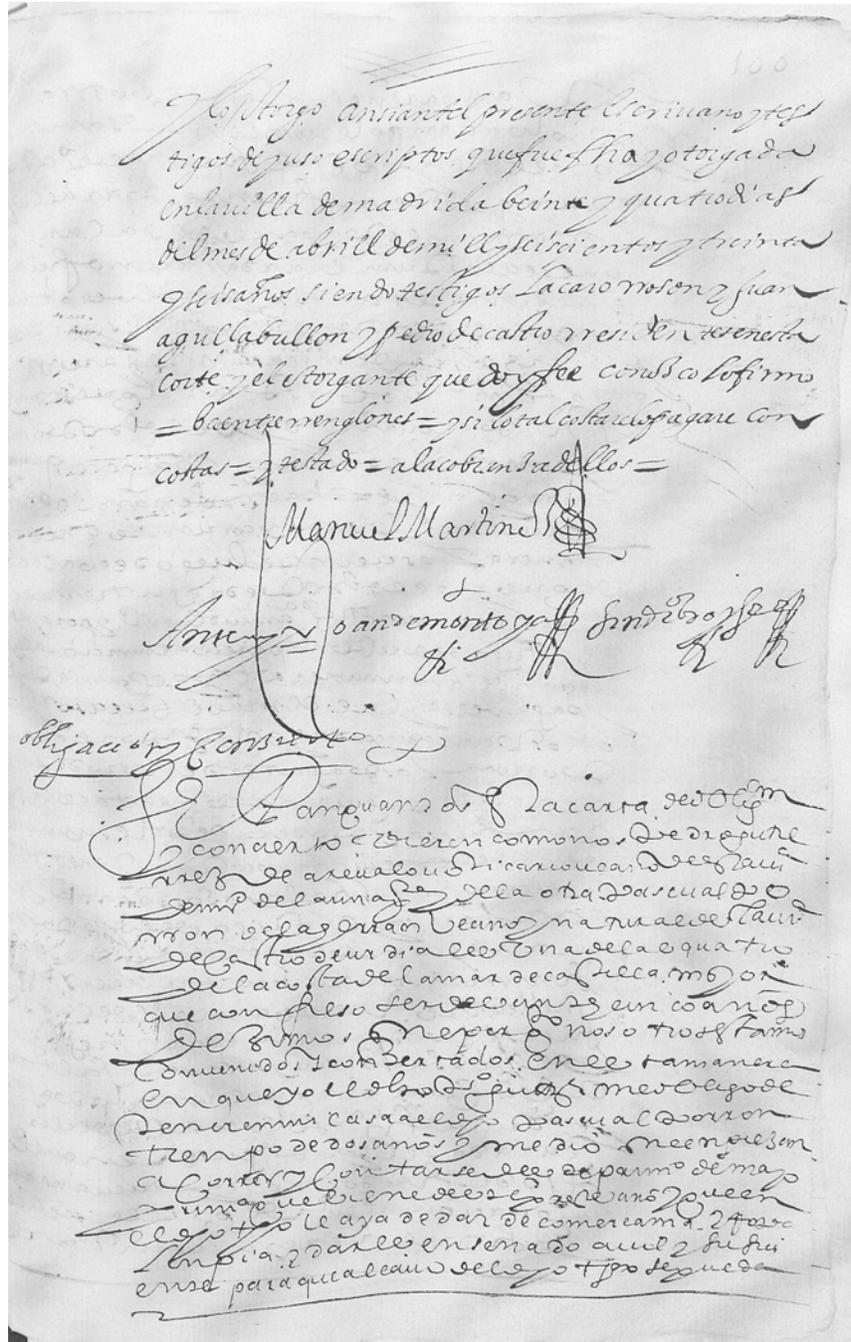


Figura 4. AHPM. T: 2593, fols. 100r-102v.

Además de lo antedicho, en este caso aparece la importante figura de un fiador, Francisco de Leizaga, que sirve en casa de D. Antonio Hurtado de Mendoza, Secretario de Cámara de S. M., que se obliga en caso de incumplimiento del aprendiz a pagar los veinte ducados y

lo que faltare cumplir todo lo acordado en este contrato... y como testigo Diego de Escalante, boticario de la Suprema Inquisición.

Poco después, 20 de mayo de 1636, se firma la carta de pago y concierto entre Pedro Gutiérrez de Arévalo y

Pascual Porrón¹². Es decir, el boticario Pedro Gutiérrez de Arévalo tenía de este modo todas las garantías para desempeñar su trabajo.

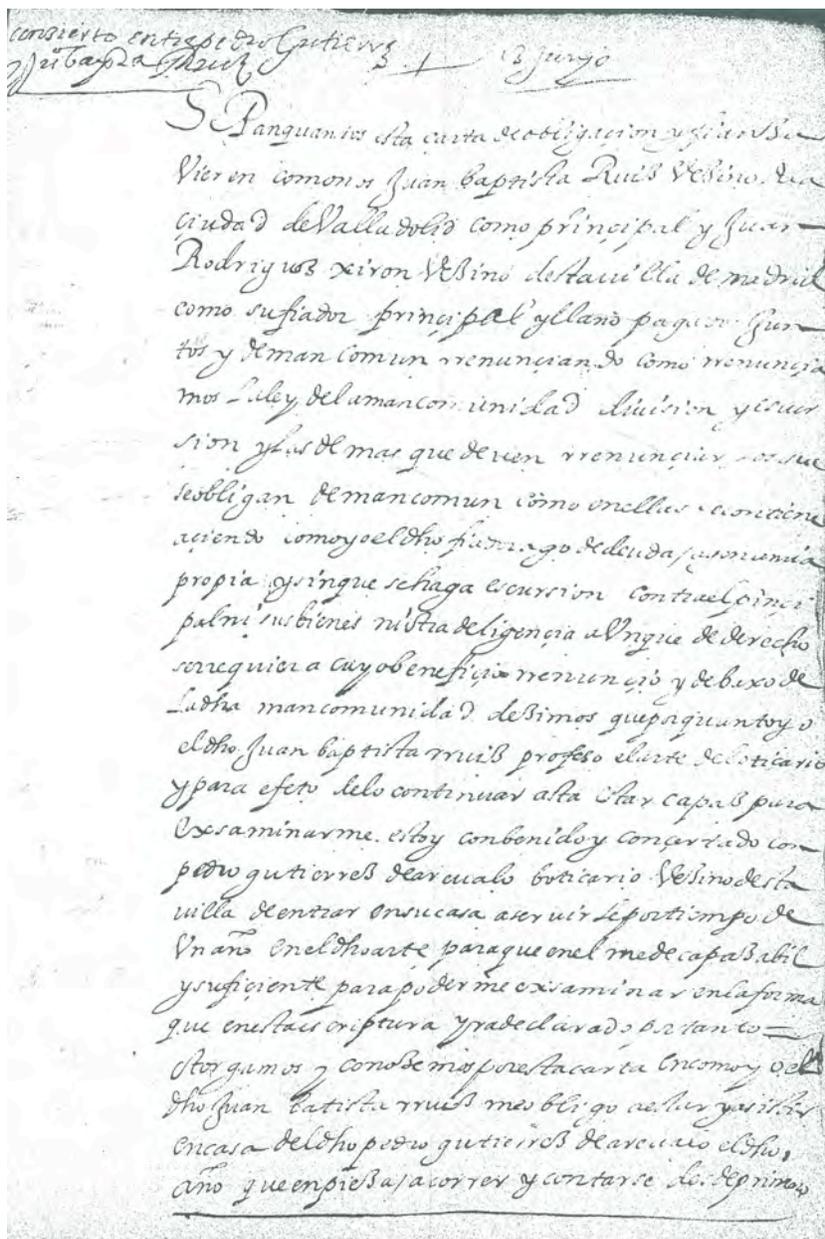


Figura 5. AHPM. T: 2593, fols. 146r-147v.

Poco tiempo más tarde ,13 de junio de 1636, se firma la escritura de concierto entre Gutiérrez de Arévalo y Juan Bautista Ruiz¹³ para que este pueda aprender el arte de boticario a fin de poder examinarse (Figura 5). Juan Bautista Ruiz era vecino de la ciudad de Valladolid, menor de 25 años y mayor de 23 como él mismo manifiesta que:

[...] profeso el arte de boticario y para efecto de lo continuar asta estar capacitado para examinarme estoy convenido con Pedro Gutierrez de Arevalo de entrar en su casa a servirle por tiempo de un año para que el me de capaz abil y suficiente para poderme examinarme... me obligo de estar y asistir en casa de dicho Pedro Gutierrez de Arevalo en el dicho año y asistiré en su casa y botica

sirbiendolo con puntualidad y cuidado en todo aquello que me encomendare y mandare tocante al dicho arte de boticario y dentro del año me ha de capacitar abil y suficiente para poderme examinar en el dicho arte de boticario y me ha de dar de comer y beber cama y ropa limpia sin que sea obligado a me dar otra cosa y si pasado el dicho año no estubiere cumplido con lo susodicho me ha de tener en su casa todo el tiempo que fuese necesario asta estar suficiente para el dicho examen y me ha de pagar cada mes el salario que acostumbra a pagar a cualquier mancebo de botica... me obligo que no me ausentare no me yre ni ausentare ni llebare cosa alguna de su casa y si por mi culpa y descuido se urtare alguna cosa la

pagaremos con la declaración jurada de dicho Pedro Gutiérrez de Arevalo...y si me fuere de la dicha casa el susodicho pueda buscar otro oficial que a mi costa acabe de servir el tiempo que faltare de dicho año concertándole por el precio que justo fuera y por la cantidad que se montare se nos ha de poder executar...

Estas condiciones son aceptadas por Pedro Gutiérrez de Arévalo quien manifiesta:

[...] le enseñare en el arte de boticario y le dare habil y capaz para que se pueda examinar en el...y no le echare de mi casa hasta tanto haya cumplido con lo dispuesto que acepto...

Curiosamente firman, entre otros, como testigos Francisco Gómez y Gerónimo Perez, oficiales de la botica, de lo cual se deduce que en el año 1636 en la botica de la calle de Atocha además del boticario titular había dos oficiales y dos aprendices, es decir, era una botica bien dotada.

¿Quién era Pedro Gutiérrez de Arévalo titular de esta botica?

Pedro Gutiérrez de Arévalo, natural de Berlanga, hijo del Doctor Mathías Gutiérrez, era un boticario que junto a Diego de Villaizán en la Congregación y Colegio del Señor San Lucas y Nuestra Señora de la Purificación, a la que ambos pertenecían, defendían a los boticarios madrileños¹⁴.

En 1634 publica la obra *Práctica de Boticarios, Guía de enfermeros, Remedios de Pobres* que en la censura realizada por Antonio Ponze de Santa Cruz, de la Cámara de SM, Protomédico más antiguo en todos sus Reinos y Señoríos, Abad de Cobarrubias, se recoge la importancia de esta obra para la salud y consuelo de los dolientes por lo cual ha de ser premiado...

En el prólogo nuncupatorio que de esta obra hace Diego de Villaizán a su amigo Pedro Gutiérrez de Arévalo afirma que en sentencia de Sócrates: “el más seguro acierto que se puede desear para adquirir amigos es la sabiduría” y que “en tiempos que pocos saben arriesgar amigos, y no todos acierta a enseñar doctos, hallo que v.m. solo sabe cumplir con todo, pues le veo ocupado, no solo en castigar detractores de nuestra profesión, sino en dar luz con su doctrina, á los que como yo necesitamos de ella...”, “pues hallo en vd un sujeto que con valentía la defiende y con enseñanza la deja rica de preceptos, y mas en tiempo que la Pharmaceutica tanto necesita de ellos”.

Pedro Gutiérrez de Arévalo otorgó dos testamentos; en 20 de agosto de 1654¹⁵ el primero y en 11 de noviembre de

1654¹⁶ el segundo (**Figura 6**). Fallece el 21 de noviembre de este año realizándose el inventario de bienes por su viuda María de Zurita pocos días después, el 24 de noviembre¹⁷.

En los dos testamentos, además de los legados obligatorios, se hace una tasación de su botica¹⁸, en la importante cantidad de tres mil ducados, bien es cierto que estaba bien surtida: medicamentos simples, compuestos, redomas, una de ellas de plata en la “que se hace el aceite de Mathiolo”, cajas, ollas, tinajas, morteros, botes. De los cajones de la botica en unos estaban las drogas, en otro los trociscos píldoras y otras cosas, y en otro la confección de Jacintos, además de miel, cera, aceite, manteca, azúcar, almendras dulces y amargas. Al citar libros solo hace referencia a estos sin pormenorizar, pero en uno de los legados figura:

[...] ítem mando a Bernave Ruiz del Castillo, boticario en Alcalá un mesue de los dos que tengo de tabla como no sea el antiguo en el que tengo puestas algunas anotaciones y me encomiende a Dios...¹⁹

Que en las boticas se debían recetas de medicamentos elaborados y dispensados, pero no pagados, era si bien no normal sí habitual²⁰, es decir, el boticario en su ejercicio profesional no solo ponía en juego su trabajo, y pericia, sino también su peculio, hecho corroborado en esta disposición testamentaria en la que se recoge²¹:

[...] por qué es necesario sacar y tassar las quantas y rrecetas que me deben en mi botica nombro prara que las traslade y tasse a Juan Gonzalez boticario que vive en la puerta de Moros y mando se le den Zien ducados y que las rrecetas que me ubiere dado y estuvieren en mi poder de cosas que ubiere llevado de mi botica para la suya se le entreguen y si algo me debiere no se lo pidan porque se lo mando y perdono...

Otro de los legados testamentarios se refiere a la voluntad de ceder los derechos de una segunda impresión de su precitada obra, “Práctica de Boticarios. Guía de enfermeros. Remedios para pobres”, a los niños expósitos de Nuestra Señora de la Inclusa para alimentar a los niños que retuvieran en el dicho hospital.

En consecuencia no es extraño pues que con los medios materiales y conocimientos disponibles Pedro Gutiérrez de Arévalo pudiera enseñar a aprendices anhelantes de ser oficiales.

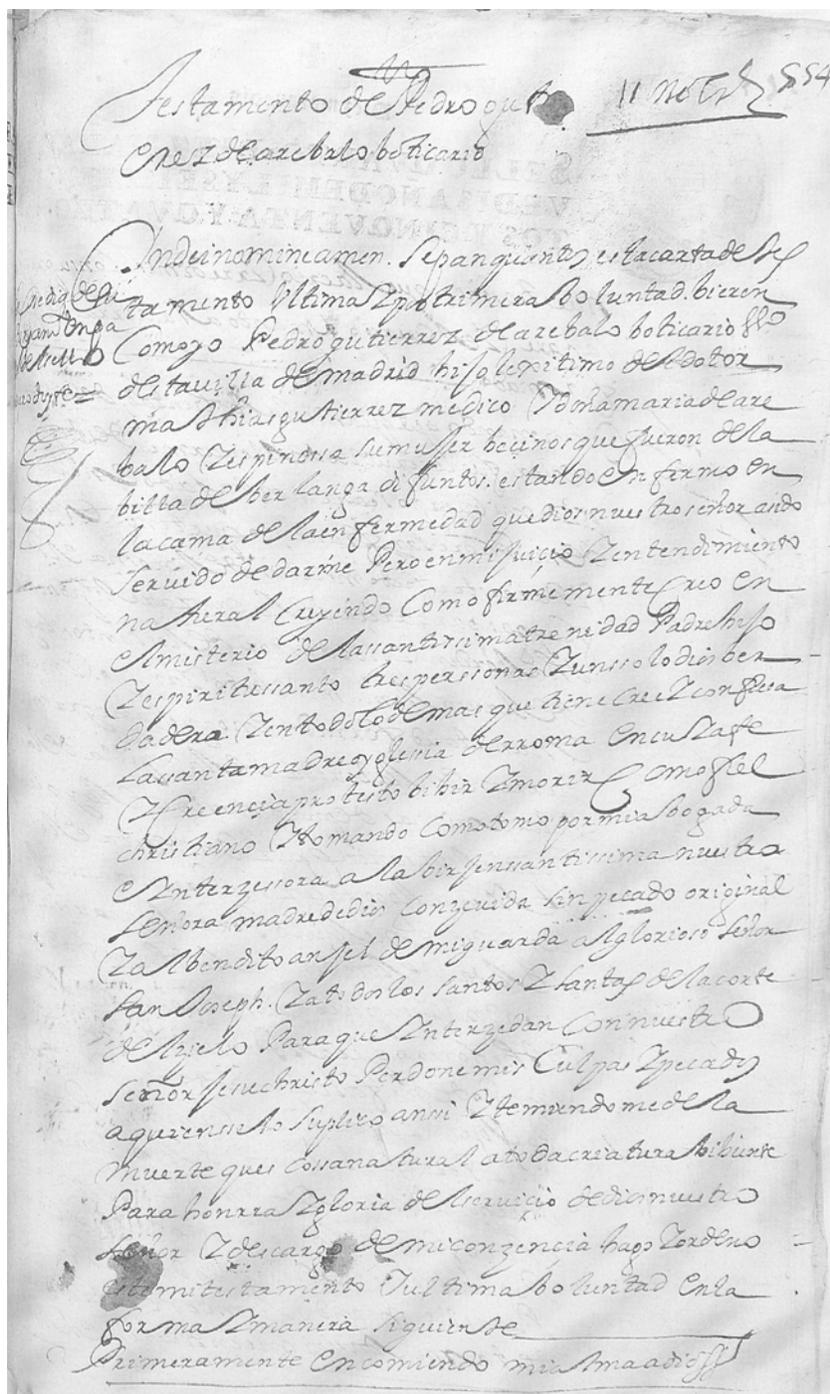


Figura 6. AHPM. T: 7037, fols. 554r-564v.

Curiosamente los dos aprendices admitidos son de fuera de la Corte, uno de Castro Urdiales y otro de Valladolid, mayores de edad 25 y 24 años y por un periodo de aprendizaje de 2 años y medio y 1, respectivamente, lo que indica que, como uno de ellos manifiesta: “profeso el arte de boticario y para efecto de continuar estar capacitado para examinarme...”. La capacitación y años para el examen lo eran según la formación y edad del aprendiz, que se trasladaba a la Corte a terminar su formación para, posteriormente, someterse al examen ante

el Real Tribunal del Protomedicato. De aquí también la importancia del Maestro elegido.

La última de las escrituras de aprendiz de boticario por nosotros estudiada es la otorgada, el 2 de julio de 1697 ante el escribano Nicolás García, por Pedro Martín de Sepúlveda, residente en Madrid, para que su hijo Diego, de 18 años, aprenda el oficio de boticario, por tiempo de cuatro años, con Manuel Arias Fernández, boticario establecido en la madrileña Puerta del Sol²² (Figura 7).

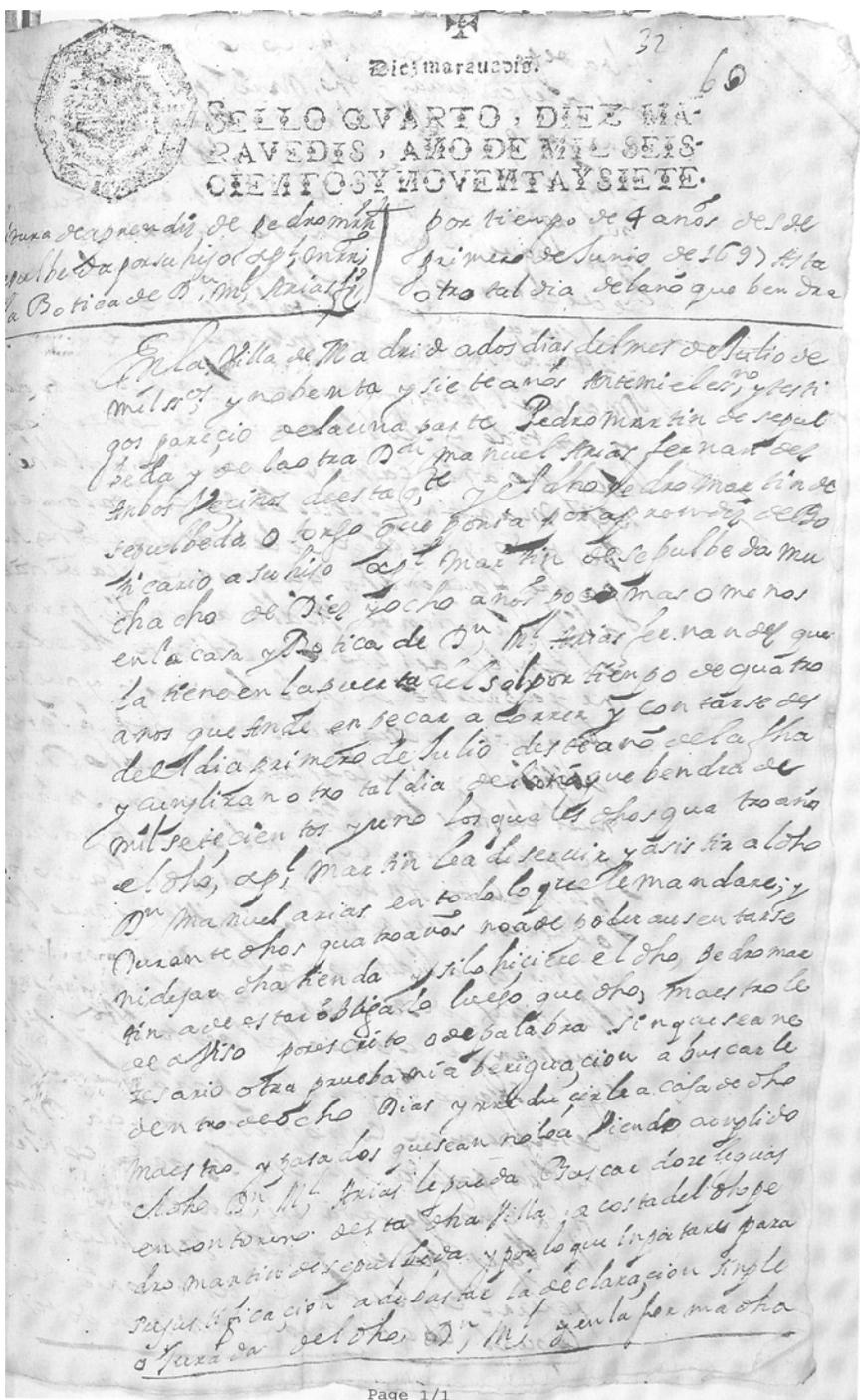


Figura 7. AHPM. T: 14145, fols. 60r-61r.

¿A qué se comprometen ambos? El aprendiz, a servir durante el tiempo de aprendizaje fielmente a su maestro en todo lo que le mandare, a no ausentarse de la casa ni dejar la tienda sin permiso durante ese periodo y, si lo hiciere, su padre está obligado luego que dicho maestro le dé aviso, por escrito o de palabra, a buscarle y reducirle a la casa de dicho maestro y, no habiéndolo hecho, el boticario habrá de buscarle doce leguas en contorno de esta villa cuyos gastos habrá de pagar el padre del discípulo discípulo, pudiendo mandar el boticario a otra persona para cobrar al progenitor los cuatrocientos maravedíes de salario en cada

día de ausencia.

¿A qué se compromete el boticario? Manuel Arias Fernández se obliga durante los cuatro años a tener en su casa, dar de comer, cama y ropa limpia al aprendiz, vestido y calzado han de darle sus padres, pero lo más importante del contrato es:

[...] darle abil y suficiente al dicho aprendiz para que el Consejo del Protomedicato le declare y apruebe de Maestro Boticario y que pueda ganar en dicha cualquier botica salario de oficial y si no lo estuviere el dicho D.

Manuel De Arias le ha de pagar el mismo salario que podía ganar como tal oficial...²³

Tal vez las condiciones para aprendiz y Maestro, recogidas en esta escritura, son las que más se asemejan a las requeridas por el Protomedicato: cuatro años de práctica, 18 años para entrar al servicio del boticario, y expresamente es en la única que se cita al Consejo del Protomedicato como competente para la aprobación del aprendiz.

De hecho hemos de convenir que en su conjunto las condiciones establecidas en las escrituras de aprendiz de boticario, vaciadas, no son diferentes, en líneas generales, a las establecidas para otros oficios, sirvan de ejemplo las escrituras de aprendiz de cirujano²⁴ (Figura 8) y la de aprendiz de maestro ebanista²⁵. En ambas se exigen al

aspirante años de aprendizaje: tres en el caso de cirujano barbero sangrador, y seis en la de ebanista, fidelidad al maestro, y asunción por ser menores de edad los aprendices, de pagar, si se escaparan de casa del maestro, una determinada cantidad; 300 reales de vellón en el caso del cirujano no romancista y 200 en el caso del aprendiz de ebanista.

El maestro a su vez se obligaba en el tiempo acordado de mantener al discente en su casa, darle cama, comida y ropa limpia, curarle por un periodo de tiempo las enfermedades no contagiosas, y, sobre todo, enseñarle el oficio haciéndole “abil” para trabajar de oficial, y asumir su responsabilidad de que en caso de no hacerlo ha de mantenerle en su casa y pagarle la misma cantidad que percibiría trabajando de oficial hasta que esté formado.

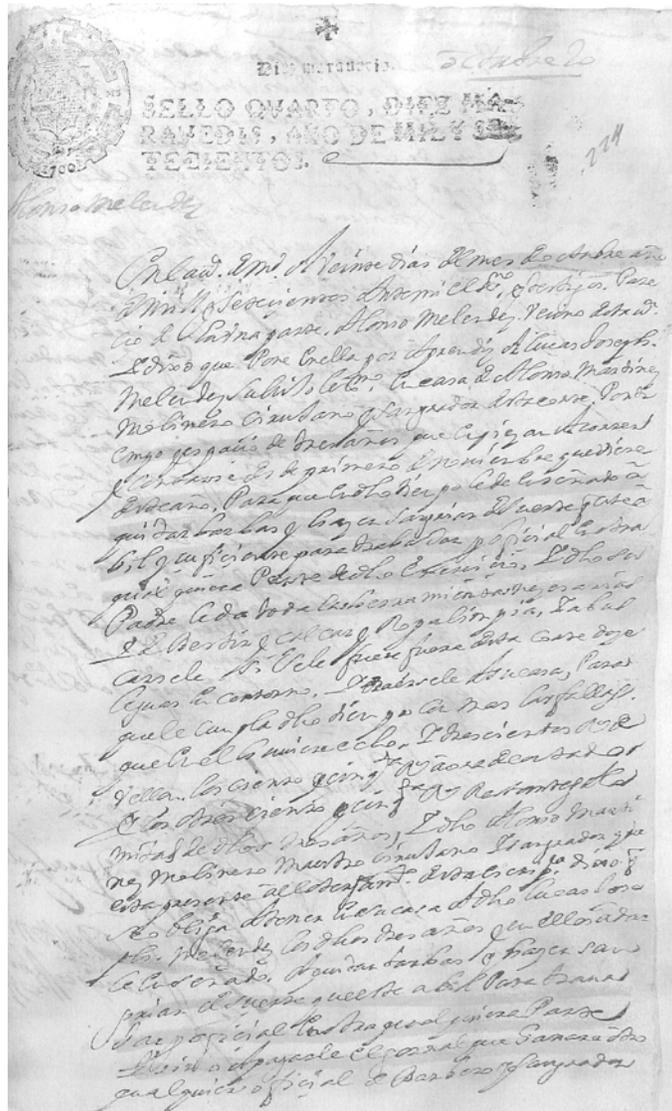


Figura 8. AHPM. T: 13472, fols. 162r-163r.

3. CONCLUSIÓN

Tras lo expuesto entendemos que contamos con una idea global de la realidad del aprendizaje de los boticarios en Madrid y en la Corte durante los siglos XVI-XVII. Si

bien es cierto que el modo de aprender el oficio y arte de boticario exigía, no había otro, la permanencia durante un número de años como aprendiz en la botica de un boticario aprobado por el Real Tribunal del Protomedicato para, con

posterioridad, presentarse al correspondiente examen ante los examinadores designados por dicho organismo, tras cuya superación podrían ejercer la profesión, las condiciones exigidas, en teoría, al Maestro y al aprendiz establecidas en las distintas disposiciones regulatorias; años de permanencia, conocimientos, edad, limpieza de sangre, saber latín..., en la práctica no siempre se cumplían.

El estudio de escrituras notariales, inéditas hasta este momento, permite concluir que al iniciar el aprendizaje discípulo y maestro boticario adquirirían una gran responsabilidad que habían de asumir y ejercer.

El aprendiz estaba obligado a permanecer durante los años convenidos en la casa botica ayudando al boticario, y aprendiendo de su maestría todo lo referente a la elaboración de medicamentos simples y compuestos, sin que se pudiera ausentar de la misma hasta finalizado el contrato, y si lo hiciere el padre o tutor habría de devolverle de nuevo y resarcir, económicamente, al boticario los daños causados.

La responsabilidad del Maestro se me antoja total. Debería enseñar y formar, humana y profesionalmente, al aprendiz, pues le admitía en su casa, le había de dar de comer, beber, cama y ropa limpia, y hasta vestir y calzar, en algunos casos curar las enfermedades, eso sí, un determinado tiempo y las no contagiosas, y preocuparse de que no se fuera de ella y, si lo hiciere, mandarle a buscar para que volviese y continuar las enseñanzas que, en semejantes circunstancias, es nuestra particular opinión, no

serían nada fáciles y tendría que formarle asumiendo que al presentarse al examen estaba lo suficientemente preparado para superar las pruebas; el dicho popular del “buen maestro hace al buen discípulo” aquí se hace realidad, pues en caso contrario debería seguir enseñando al discente tanto tiempo como fuere necesario para que le declarasen “Abil y suficiente” pero, eso sí, pagándole de su peculio el salario que se le daba a un oficial o mancebo examinado, ¡ahí es nada!.

Bien es cierto que en muchos casos el boticario por su trabajo y dedicación recibía una remuneración económica e incluso exigía una fianza antes de admitir al alumno.

De lo antedicho se desprende que el boticario al asumir el compromiso conocería la persona con la que tendría que convivir y formar, porque además aunque el número de años de formación eran cuatro, en las escrituras estudiadas es variable; seis lo son en la del S. XVI, y en las del XVII, excepto en una ya en los albores del S. XVIII que son cuatro, generalmente son menos: tres, dos y medio e, incluso, uno.

En síntesis, si a lo largo de la época estudiada no había universidades u otros centros docentes en los que formarse, sí había boticarios, tal vez practicones aventajados, autodidactas conocedores por la experiencia y el estudio de las obras de Práctica Farmacéutica indispensables de todo lo necesario para la elaboración de los medicamentos, dispuestos a transmitir en sus propias boticas sus conocimientos del Arte Farmacéutico a los jóvenes que deseaban llegar a ser boticarios.

¹ Francisco Javier PUERTO SARMIENTO. *El Mito De Panacea. Compendio de la Historia de la Terapéutica y de la Farmacia*. Madrid: DOCE CALLES, 1997 (cf. pág. 129-134-199).

² El documento se encuentra expuesto en el Museo de la Real Academia Nacional de Farmacia, y una copia en el archivo de dicha institución (Leg. 1.2).

³ Antonio GÓNZALEZ BUENO, Rosa BASANTE POL. *José Hortega (1703-1761) La peripecia vital e intelectual de un boticario ilustrado*. Madrid: Instituto de Estudios Madrileños, 2015 (cf. pág. 37-48).

⁴ Pascual IBORRA. *Historia del Protomedicato en España (1477-1822)* (edición, introducción e índices de Juan Riera y Juan Granda-Juesas). Valladolid: Universidad de Valladolid, 1987.

⁵ Pascual IBORRA. *Opus. cit.* págs. 29-32.

⁶ Guillermo FOLCH JOU. *Historia de la Farmacia*. Madrid: Gráficas Alonso, 1972 (cf. págs. 160-163).

⁷ Archivo Histórico de Protocolos de Madrid (AHPM). T: 201, fols. 567r-568v.

⁸ AHPM. T: 2748, fols. 550r-551v.

⁹ Archivo de la Real Academia Nacional de Farmacia. Libro 1, folio 5r.

¹⁰ AHPM. T: 4915, fols. 513r-514v.

¹¹ AHPM. T: 2593, F 6 (primera foliación), fols. 100r-102v.

¹² AHPM. T: 2593, F 2 (primera foliación), fols. 126r-126v.

¹³ AHPM. T: 2593, F 4 (primera foliación), fols. 146r-147v.

¹⁴ Archivo de la Real Academia Nacional de Farmacia. Libro I.

¹⁵ AHPM. T: 7037, F 26 (primera foliación), fols. 433r-446v.

¹⁶ AHPM. T: 7037, F 22 (primera foliación), fols. 554r-564v.

¹⁷ AHPM. T: 7037, F 10 (primera foliación), fols. 574-578.

¹⁸ AHPM. T: 7037, fol. 560r.

¹⁹ AHPM. T: 7037, fol. 559v.

²⁰ Cf: Rosa Basante Pol. *Historia de la Farmacia a través del Protocolo Notarial en los primeros años del siglo XVIII* (Tesis doctoral. UCM) Madrid (mecanografiado), 1976.

²¹ AHPM. T: 7037, fol. 558v.

²² AHPM. T: 14145, fols. 60r-61v.

²³ AHPM. T: 14145, fol. 60v.

²⁴ Escritura de aprendiz de barbero sangrador, otorgada por Alonso Melendez, residente en la villa de Madrid, para que su hijo Lucas Joseph Melendez aprenda el oficio en casa de Alonso Martinez Molinero. Cirujano y sangrador de esta corte, por espacio de tres años. Madrid. A 20 dias del mes de octubre de 1700. AHPM. T: 12650, fol. 224 r y v.

²⁵ Escritura de aprendiz que otorgan, en 19 de octubre de 1700, Alonso de Miranda y Maria de Ocasar y Figueroa, a Melchor Ortiz Maestro ebanista en esta Corte, para que su hijo Juan García del Riego aprenda el oficio de ebanista, por espacio de seis años en casa de aquel. AHPM. T: 13472, fols.162r-163r.



Sesión sobre política científica actual centrada en la creación de una Academia Joven Nacional Titulada “EDUCACIÓN-INVESTIGACIÓN PARA EL FUTURO: LA ACADEMIA JOVEN DE ESPAÑA

Sesión presidida por el Excmo.Sr. Presidente de la RANF Dr. D. Mariano Esteban y con la asistencia de la Excm. Sra. Secretaria de Estado del Ministerio de Investigación, Desarrollo e Innovación Dña. Carmen Vela.

Ana María Pascual-Leone Pascual



Coordinadora de la sesión

Sesión celebrada el 9 de junio de 2016

e-mail: anamariapascualleone@gmail.com

ORDEN DEL DÍA

Presentación:

“La Academia Joven de España: Presente y Futuro”

Excm. Sra. Dña. Ana M. Pascual-Leone Pascual

Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Ponentes:

“El mecanismo de Consejo Científico y las Academias Jóvenes”

Prof. Dr. D. David Ríos Insúa

Académico de Número de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

“Academia Joven: Mundial y Nacional”

Prof. Dr. D. Javier Martínez Moguerza

Profesor Titular de Estadística e Investigación Operativa de la Universidad Rey Juan Carlos

“La Academia Joven de Europa”

Prof. Dr. D. Juan Antonio Gabaldón Estevan

Investigador de la Institución Catalana de Investigación y Estudios Avanzados (“ICREA”)

La Academia Joven de España: presente y futuro

Ana María Pascual-Leone Pascual

INTRODUCCIÓN

Las Academias Jóvenes están siendo creadas en el mundo actual, todas ellas, exactamente, en los dieciséis años que llevamos del siglo XXI. Por ello se trata de exponer y debatir los nuevos planteamientos que ello supone, las condiciones en las cuales se produce su fundación, y los posibles logros y beneficios que su creación reportará en el futuro y, difundir, así mismo, el estado de la gestión en nuestro país de la Academia Nacional Joven y quienes están colaborando en ello.

Con dicho fin, han sido invitados como ponentes el Excmo. Sr. D. David Ríos Insua Académico de Número de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, que ha formado parte del grupo de trabajo en dicha Academia para la formación de la Academia Joven de España y que, además, es un brillante matemático que dirige la cátedra AXA en el Instituto de Ciencias Matemáticas del CSIC y es catedrático, en excedencia, de Estadística e Investigación Operativa en la Universidad Rey Juan Carlos. Es sobradamente conocido y asesor científico de Aisoy Robotics, especialista en análisis de decisiones y análisis de riesgos, con aplicaciones en seguridad aérea, robótica social y lucha contra el terrorismo.

Los otros dos ponentes son dos brillantes profesores jóvenes españoles que han sido invitados expresamente, los doctores. D. Javier Martínez Moguerza y D. Juan Antonio Gabaldon Estevan, por pertenecer ya a la Academia Joven Mundial (Global Young Academy (GYA). creada en Berlín en 2010. Pertenecen a ella junto con otros cuatro, igualmente brillantes profesores, de todos los cuales se expone al final de esta intervención un extracto de sus “currícula”.

Se trata de ser lo más concreto posible para, finalmente, poder tener un amplio debate donde realizar las preguntas que se consideren oportunas, porque el propósito fundamental de la mesa redonda es informar y difundir.

EL PORQUÉ DE UNA ACADEMIA JOVEN EN NUESTRO PAÍS Y EN EL MUNDO ACTUAL

En todos los países educación-investigación, o viceversa, constituyen un binomio indisoluble. Si la educación es de calidad la investigación florece. Nuestro país tiene serios problemas en dicho binomio, de ahí la petición de Pacto por la Educación, como hizo recientemente el Instituto de España, o Pactos por la Ciencia, reiteradamente pedidos por los Investigadores de este país (1). En ambas vertientes tenemos cuestiones sin resolver (2), por ello, no nos podemos permitir, cara al futuro, quedarnos al margen de ninguna Institución Cultural que se haga en el mundo, en este caso, de la Academia Joven de España.

El cambio de milenio supuso, sin duda, la constatación

de que el establecimiento, de forma imparable, de las nuevas tecnologías de comunicación nos están llevando a una intercomunicación como nunca ha existido y, por tanto, a una globalización de la sociedad humana en este planeta.

En este mundo nuevo, que ya vivimos, habrá que contar con ello en cuanto a la elaboración de leyes educativas y problemas culturales o políticos, afrontando, también, los nuevos planteamientos que surjan y, además, adaptarse a ellos. Y para eso, como nunca, y sobre todo en vertiente cultural, se debe establecer una comunicación intergeneracional.

En un mundo global no se puede hablar de nacionalidades, hay que elaborar las leyes, la educación y la cultura para el mundo interconectado en el que estamos. Hay que pensar lo más unitariamente posible en todos los países y hacerlo contando con todas las mentes creativas del planeta; los jóvenes y los no tan jóvenes, pero que, de alguna manera, han demostrado ser cultos y creadores. Y estos últimos, los no tan jóvenes, se encuentran, al menos parte de ellos, en las Academias clásicas. Esa ha sido una de las causas por las cuales personalidades de excelencia de las Academias europeas, sobre todo la alemana, lanzaron la idea de la creación de Academias Jóvenes. Idea que esta Academia de Farmacia, junto con la Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales y, posteriormente, Medicina están intentando defender en nuestro país, porque nos parece necesaria para este mundo nuevo.

Los grupos de trabajo constituidos en las distintas Academias han sido:

Grupo de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

- D. David Rios Insua
- D. Francisco Garcia Novo
- D. Manuel Ramon Llamas Madurga

Grupo de Medicina

- D. Jesús A. Fernández-Tresguerres Hernández

Grupo de Farmacia

- D. Antonio R. Martínez Fernández
- D. Juan Ramón Lacadena Calero
- D. Javier Puerto Sarmiento
- Dña. Ana M^a Pascual-Leone Pascual

Todos ellos son Académicos de Número curiosamente de tres Academias que cultivan vertientes, se puede decir, multidisciplinares en sus dos direcciones, científica o sanitaria, lo mismo que en Bellas Artes, su campo creativos son diversos y ello, sin duda, ayuda a estas Academias a comprender los fines y planteamientos, como expondremos más adelante, de las Academias Jóvenes

ACADEMIAS JÓVENES NACIONALES: UNA NUEVA CONCEPCIÓN DE ACADEMIA

Las Academias Jóvenes Nacionales no se parecen a ninguna de las que existen en ningún país del mundo. Son, en general, para gentes de 30-40 años con no más de 10 años que han acabado su Tesis Doctoral y solo pertenecen a ella durante 5 años, con lo cual se asegura el relevo generacional en sus países. Se diría que es la idea concebida por países europeos cultos, sobre todo Alemania, que cara al futuro y sus necesidades reflexionan.

La prueba de que dichas necesidades son reales es que, rápidamente, a partir del año 2000, después de creada la Academia Joven Alemana, la idea y la creación de dichas Academias se ha extendido por todos los continentes. Desde el año 2000 en los dieciséis años de este siglo se han creado ya 32-40 Academias Jóvenes Nacionales aproximadamente

La primera Academia Joven fue creada, pues, en Berlín, en el 2000 y sus soportes fueron, y son, la Leopoldina de Ciencias y la de Ciencias y Humanidades Berlín-Brandeburgo, dos Academias de las más antiguas y prestigiosas de Europa. Es esta Academia Joven Alemana la que ha ido sirviendo de modelo a las muchas creadas

Las Academias Jóvenes Nacionales han supuesto, para todos los países donde se han creado, una nueva concepción de Academias. No se puede extrapolar desde lo que representa una Academia clásica para comprender el fin y el modo de actuación de las Academias Jóvenes, porque en ambas vertientes son otra cosa.

No obstante, hay que destacar que hay dos cuestiones comunes a ambas Academias, jóvenes y clásicas, y son, además, cuestiones muy importantes. La primera que ambas eligen a sus miembros por su excelencia intelectual y la segunda, ambas tienen como misión el debate de problemas culturales. Ello les confiere el nombre de Academias porque, como saben, la primera Academia que se creó en la humanidad fue la del filósofo Platón y lo hizo en el Jardín de Akademos, y de ahí el nombre de Academias.

Las Academias Jóvenes funcionan, pues, como Academias independientes de las Academias clásicas, pero en todos los países han sido creadas y soportadas por ellas Y por eso su creación en los distintos países es alentada y promocionada por miembros de dichas Academias. En nuestro país, la primera vez que se oyó hablar de Academias Jóvenes fue en 2010, vinieron personalidades de excelencia cultural de Academias alemanas, suecas y polacas, la reunión fue organizada por ALLEA (All European Academies) y se dirigieron al Instituto de España, que engloba a todas las Academias sénior de este país. No se dirigieron a instituciones administrativas o políticas (3), pero la idea entonces estaba poco consolidada, yo asistí como Vicepresidente que era de la RANF.

Pasada la crisis económica mundial, en el 2014, se organizó otra reunión también en el Instituto de España e

igualmente con personalidades de excelencia de Academias clásicas, en este caso alemanes, holandeses y de la Universidad de California (3). Pero la reunión fue organizada, en esta ocasión, por la Academia Joven Mundial (Global Young Academy, GYA) que había sido creada en 2010 en Berlín. Y por el mismo procedimiento se han ido creando academias jóvenes por todos los continentes del planeta.

En estas Academias Jóvenes se busca la selección de los creadores del planeta y por eso se cultiva la interdisciplinariedad. Porque la creatividad existe en la mente humana en cualquier vertiente cultural desde Bellas Artes hasta Ingeniería. Una mente creativa lo será siempre, no importa la vertiente que cultive, y eso es lo que parece importante seleccionar en las nuevas Academias Jóvenes. Se pretende como resultado una CULTURA sólida y un mundo mejor, porque, además, estará ahora, como nunca, enormemente interconectado.

ALGUNAS IDEAS SOBRE LA ACADEMIA JOVEN MUNDIAL (GYA) Y VERTIENTES COMUNES CULTIVADAS EN LA GYA Y LAS ACADEMIAS JÓVENES NACIONALES

En 2010 se creó en Berlín la Global Young Academy (GYA) o en español, Academia Joven Mundial, se crea para recoger *“la voz de los jóvenes creadores de todo el mundo”* Según nos dijo el Dr. Weiss que nos visitó en 2014 para hablar de ella (3). El Dr. Weiss era y es catedrático de Nanotecnología de la Universidad de California y era, entonces, copresidente de la Academia Joven Mundial. No vamos a describir nada más de la Academia Joven Mundial porque el Dr. Martínez Moguerza, con más conocimiento de ella, lo hará posteriormente. Pero, no obstante, conviene exponer algunas ideas.

Hay un periodo, cuando un joven empieza a despegar en solitario, después de su Tesis, y a formar su grupo de investigación, o bien a crear su camino un nuevo artista, o un escritor cuando empieza a ser conocido, en el cual su lucha es grande porque necesita conectar con los investigadores y profesores o artistas internacionales de su especialidad. Dichas conexiones, han sido siempre difíciles con personalidades sénior de verdadera talla. Hasta ahora se conseguían, a duras penas, en los congresos internacionales o a través de algunos profesores de cada país. Pero, a partir de ahora, podrá intentarse a través de la Academia Joven Mundial, que apoya y sostiene a las Academias Nacionales. Cosa muy importante, porque puede ahorrar mucho tiempo a este joven en ese estadio de su carrera. Y, además, será útil para cualquier vertiente cultural que se considere: científica, humanista o artística.

Estas Academias Jóvenes pueden venir, pues, a llenar en el futuro, en vertiente educativa, un espacio ahora no cubierto en muchos países europeos, en la última parte del nivel educativo de jóvenes creadores de excelencia.

Así mismo, los fines, tanto de la GYA como de las Academias Jóvenes Nacionales, son la divulgación de los problemas educativos que surjan en una sociedad, y crear

la posibilidad que permita a los políticos conocer, si quieren, la opinión de creadores jóvenes que hasta ahora no ha estado ni representada, ni oída. Otro asunto a tratar por estas Academias es la interfase Cultura-Sociedad y llevarlo a la consideración de las nuevas generaciones con fines educativos. Dicha interfase presenta problemas en muchos países, como sucede en el nuestro.

Finalmente, hay que remarcar que existen tres vertientes muy importantes, que son cultivadas tanto por la Academia Joven Mundial como por las Academias Jóvenes Nacionales que son:

Interdisciplinariedad: porque la CULTURA con mayúscula no se puede concebir sin multidisciplinariedad.

Intergeneracionalidad: porque la idea de Academias jóvenes surgió de las Academias clásicas y se necesita su soporte, experiencia y colaboración.

Internacionalidad: porque se quiere evitar que un joven creativo se pierda porque en su país exista falta de comunicación internacional o un nivel educativo precario.

Es decir, lo que llaman las tres Íes.

La idea no puede ser más global y solidaria, ni más nueva y parece honrar al mundo actual.

PROFESORES ESPAÑOLES QUE YA PERTENECEN A LA ACADEMIA JOVEN MUNDIAL

En este momento hay seis profesores españoles que pertenecen a la Academia Joven Mundial (GYA), y cinco de ellos formaron la Comisión Gestora para la creación de la Academia Joven de España: Don Juan Antonio Gabaldón Estevan, Don Javier García Martínez, Doña Maite Martínez Aldaya, Don Jesús Martínez de la Fuente, y Don Javier Martínez Moguerza.

La Comisión Gestora se formó en 2014 y el expediente reglamentario fue depositado para la petición de la creación de la Academia Joven de España en el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, a principios del 2015.

Recientemente, en 2014, se ha incorporado a la Academia Joven Mundial un nuevo profesor joven español, el Dr. D. Pedro Martínez –Santos, por ello no formó parte de la Comisión Gestora.

A continuación, se muestra un breve extracto de los “*curricula*” de los seis españoles que forman parte de la Global Young Academy, para luego concluir con unas consideraciones finales de todo lo expuesto.

CV Dr. D. Juan Antonio Gabaldón

(de la GYA y de Academia joven europea YE)

- **Biólogo (Bioquímica y B.Mol. 1996) Dr. UV (Valencia).**
- **U. Nijmahen Centre for Mole. Life Scien. Holanda (2001-5), cursó Bioinformática y Genómica Univ. Holanda.**
- **PhD medicina; premio a la mejor tesis doctoral del año (EN Holanda).**
- **Centro Príncipe Felipe: Postdoctoral EMBO y FIS (2005-8).**
- **Centro de Regulación Genómica. Genómica comparada, 2008- y allí sigue trabajando.**
- **Trabaja en genómica comparada y evolutiva de secuencias fisiológicas o morfológicas, en filogenia y proceso patológicos.**
- **Ha publicado más de 100 artículos en revistas indexadas: Science (4 artículos), Nature (2), PNAS (2) o Cell (1),**
- **Nombramiento Profesor ICREA (Institución Catalana de Investigación y Estudios Avanzados) y 2012 Secretario de Soc. Esp.Biol.Evolutiva.**
- **-Starting Grant del European Research Council (ERC)**

CV Dr. D. Javier García Martínez

GYA (academia joven global) y JGL (Foro de la YG líder)

- Catedrático de Química Inorgánica, Universidad de Alicante.
- Fulbright postdoc. en el MIT (Inst.Tecnolo. de Massachusetts).
- Medalla Europa 2005 al mejor químico europeo < de 35 años.
- Denominado 2007 por Technology Review de MIT como uno de los jóvenes investigadores más innovadores de su generación.
- European Young Chemist Award (European Association for Chemical and Molecular Sciencies) por sus contribuciones en nanotecnología.Fabrica nanomateriales para aplicación energética.
- Premio Rey Jaime I 2014 en Nuevas Tecnologías.
- Asesor de la Comisión Europea.
- Evaluador experto del European Institute of Technology and Innovation (EIT).
- Fundador de la empresa de base tecnológica Rive Technology en España, y asesor de la Round Table of Top Entrepreneurs.
- Miembro del bureau de la IUPAC.
- Autor de numerosos artículos, libros y capítulos científicos.20 patentes: campo de zeolitas mesoporosas y/catálisis.
- La tecnología creada esta comercializ. Da empleos, ahorra comb.y CO2.

CV Dra. Dña. Maite M. Aldaya

(elegida miembro de a GYA)

- Investigadora sénior en el Observatorio del Agua y la Universidad Pública de Navarra y consultora para el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA).
- PhD (ecología). Máster en Política y Regulación Medioambiental por la London School of Economics and Political Science.
- Trabajó en: Comisión Europea; FAO, UNOPS (Oficina ONU de Servicios para Proyectos) y ONU-Agua.
- Desarrolló su investigación sobre gestión integrada de los recursos hídricos, huella hídrica y eficiencia en el uso del agua en:
 - Universidad de Twente (Holanda).
 - Universidad Complutense de Madrid.
 - Universidad Politécnica de Madrid.

CV Dr. D. Jesús Martínez de la Fuente

Baracaldo 1975; GYA.

- Científico Titular, Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón (CSIC-Univ. de Zaragoza). Dirige el Grupo de Nanotecnología y Apoptosis (NAP).
- Desarrolla su investigación en: metodologías de funcionalización de nanopartículas y superficies para aplicaciones biotecnológicas.
- IP de numerosos proyectos, tales como: NANOTRUCK - desarrollo de nanopartículas multifuncionales para terapia génica, financiado por la agencia ERANET; proyecto ERC-Starting Grant NANOPUZZLE de sistemas de liberación controlada de fármacos mediante hipertermia magnética.
- Premio ARAGON-INVESTIGA, 2010.
- Miembro asociado del “Centre for Cell Engineering”, Universidad de Glasgow y del Institute of Applied Sciences and Intelligent Systems del CNR italiano en Nápoles.
- Catedrático en el National Center for Translational Medicine (Shanghai Jiao Tong University, China).
- Socio cofundador y asesor científico de la compañía NANOIMMUNOTECH S.L.

CV Dr. D. Javier Martínez Moguerza

GYA desde 2011

- Profesor Titular de Estadística e Investigación Operativa en la Universidad Rey Juan Carlos (URJC).
- IP en la URJC del proyecto europeo: “Energy Efficiency and Risk Management in Public Buildings (EnRiMa)”, en el que se proponen modelos para la mejora de la eficiencia energética.
- Ha participado en más de 30 proyectos de investigación nacionales e internacionales (15 como IP), y ha dirigido 11 tesis doctorales.
- Experto en Informática: Optimización No Lineal, Aprendizaje Automático, Reconocimiento de Patrones y Mejora de la Calidad.
- Autor de libros y artículos de su especialidad en *Mathematical Programming* o *Statistical Science*. Tiene una patente en explotación.
- Director Académico (2004-2008) del Servicio de Relaciones Internacionales de la URJC y Vicedecano (2009) de Investigación en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Informática de la URJC.
- Nominado en 2010 por el WEF y el IAP entre los 55 científicos jóvenes sobresalientes mundiales que participaron en el “Summer Davos”, Tianjin, China.

CV Dr.D. Pedro Martínez-Santos

de la GYA desde 2014

- Bachelor of Civil Engineering (Mención de Honor) y Master of Technology Management por The University of New South Wales (Sydney, Australia).
- Ingeniero de Caminos, Canales y Puertos por la Universidad Politécnica de Madrid (convalidado).
- Dr. por la UCM (2003). Profesor titular UCM 2010, especialista en Modelación hidrológica y tecnologías apropiadas para la cooperación al desarrollo.
- Desde 2011 es Director Técnico de ONGD (Geólogos Sin Fronteras); acceso a agua potable a comunidades de África y Hispanoamérica.
- Autor de tres libros y una treintena de artículos en revistas científicas indexadas. Ha dirigido varias Tesis Doctorales, participando en numerosos proyectos para entes públicos nacionales e internacionales.
- Ha recibido el Premio Coolest Paper Award de la International Assotiation of Hydrogeologists en 2014 y el Primer Premio de Divulgación Científica 2016 de la Universidad Complutense de Madrid, Actualmente está en Africa en su labor con la ONG, por ello no ha podido estar aquí.

Hay que manifestar que todos los jóvenes profesores miembros de la GYA se mostraron dispuestos a venir a esta mesa redonda pero cuatro de ellos tenían cuestiones inaplazables que hacer. El Dr. García Martínez evaluar proyectos europeos en Bruselas, la Dra. Martínez Aldaya es una mujer gestante avanzada, el Dr. Martínez de la Fuente está en Londres realizando un proyecto de la GYA. y el Dr. Martínez -Santos está en su ONG en Africa.

CONSIDERACIONES FINALES

Como pueden ustedes observar, existen seis españoles jóvenes brillantes, nacidos en distintas partes de España, miembros de la Academia Joven Mundial y que cultivan diferentes vertientes intelectuales. Ello es una pequeña muestra de la multidisciplinariedad que se cultiva en la Global Young Academy y, también, es una muestra de cómo sus elecciones de candidatos son de alto nivel y muy acertadas, como suele suceder siempre cuando hay transparencia y objetividad en la selección. Todos estos jóvenes han tenido canales internacionales para aprovechar en su formación, pero, sin embargo, en este momento, podemos solamente IMAGINAR, no conocer ni observar, los españoles jóvenes que habría en la Academia Joven Mundial si hubiéramos creado ya la Academia Joven Nacional, porque estaría soportada y conectada por y con

la Mundial, pero, no obstante, seguimos esperando la creación de la Academia Joven de España.

REFERENCIAS

1. Pascual-Leone, AM. Investigación-Educación y viceversa: la gran asignatura pendiente. Panacea (humanidades, ciencia y sanidad) 2015; 4:30-41.
2. Pascual-Leone, AM. Pay Attention: do we really need an economical model based on knowledge?[Título en español: Llamada de atención: ¿queremos verdaderamente un modelo económico basado en el aporte de conocimiento?]. An Real AcadFarm 2015; 81, 3: 224-9.
<http://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/view/1660/1686>.
3. Pascual-Leone, AM. Academia Nacional Joven: ¿vamos a dejar pasar el tren para España? An Real Acad Farm 2014; 80, 1: 4-8. [<http://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/view/1483/1525>]. Dicho editorial fue también publicado en la publicación trimestral de la SEBBM de junio de 2014 nº 180 adaptado a dicha revista "Academia Joven Nacional:¿vamos a dejar pasar el tren para España?".

El Mecanismo de Consejo Científico y las Academias Jóvenes

David Ríos Insúa^{1,2}

¹Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Valverde 22, 28004 Madrid, Spain. ²Instituto de Ciencias Matemáticas, CSIC, Nicolás Cabrera 13-15, 28049 Madrid, Spain.

Corresponding Author: david.rios@icmat.es

An Real Acad Farm Vol. 82, N°3 (2016), pp. 345-346

INTRODUCCIÓN

En esta nota se describe el Mecanismo de Consejo Científico (Scientific Advice Mechanism, SAM, en inglés) y su relación con las Academias Jóvenes que están surgiendo en Europa. Ambas iniciativas tendrán un impacto muy positivo en las actividades de las academias europeas, en general, y, en particular, en las de España.

EL MECANISMO DE CONSEJO CIENTÍFICO

El Mecanismo de Consejo Científico (SAM) fue creado por la Comisión Juncker para apoyar científicamente, y de forma sistemática, las decisiones de la Comisión Europea, más allá de las actividades del Joint Research Center y otros organismos europeos. Supone un cambio importante en las actividades de consejo científico respecto de la anterior Comisión Durao Barroso, centrada en un Chief Scientific Officer, pasándose, pues, de un modelo unipersonal a un modelo colegiado.

Así, en el SAM prevalece el denominado Grupo de Alto Nivel, formado por siete grandes científicos europeos, con un equipo de apoyo permanente en Bruselas. Además, y esto es lo que lo hace especialmente interesante para las Academias europeas, de manera explícita en su documento fundacional se indica que recabará apoyo de las mismas a través de las que podríamos llamar meta-academias europeas:

- Euro-CASE, que agrupa a 21 academias de ingeniería, siendo parte de ella la RAI.
- FEAM, que agrupa a 18 academias de medicina, siendo parte de ella la RANM.
- EASAC, que agrupa a 29 academias de ciencias, orientadas a proporcionar apoyo científico a las políticas públicas, siendo parte de ella la RACEFyN.
- ALLEA, que agrupa a 57 academias de ciencias y humanidades, orientadas a la política para la ciencia, desde una perspectiva de las ciencias sociales, siendo parte de ella la RACEFyN.
- Academia Europaea, con 2800 miembros individuales de 22 secciones y 4 clases (humanidades y artes, ciencias de la vida, ciencias exactas y ciencias sociales), que incluye algo más de 100 miembros españoles.

El SAM permitiría así reglar, sistematizar y facilitar las tareas de asesoría que distintas academias vendrían dando a gobiernos. Ejemplos principales en Europa vendrían dados por la Royal Society, la Academia Leopoldina o las Academias Francesa u Holandesa. También, EASAC, con

informes como los relacionados con *Fenómenos Meteorológicos Extremos* y *Cambio Climático*, *Smart Villages*, *Seguridad Alimentaria* o *Valoración del Almacenamiento de la Energía*, ha tratado de influir sobre las decisiones en Bruselas. En España, más tímidamente, la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (RACEFyN) ha dado apoyo científico en problemas como la seguridad aérea o el virus del Ebola y preparado informes en relación con la enseñanza de las ciencias, entre otros. También es muy relevante el informe de las Academias del Instituto de España en relación con la petición de un pacto por la estabilidad del sistema educativo en nuestro país.

Los problemas globales complejos que nos afectan, como el cambio climático, la ciberseguridad, el envejecimiento de la población (en Europa), o la disponibilidad de energía, requiere cada vez más de consejo científico hacia la toma de decisiones públicas. En la visión anterior, dentro para el adjetivo científico, adoptamos una definición amplia, en el sentido de la palabra alemana *Wissenschaft*, que cubriría las ciencias sociales, humanas, naturales, exactas, médicas y de la ingeniería, de forma coordinada y equilibrada, según una aproximación multi e interdisciplinar a la resolución de problemas.

LA IMPLEMENTACIÓN DEL MECANISMO DE CONSEJO CIENTÍFICO

Para facilitar la participación de las academias en el SAM, se ha preparado un proyecto H2020 designado, coordinado por acatech, por cuatro años. En el proyecto se incluye:

- La elaboración de informes a medio/largo plazo habitual, por ejemplo, en los proyectos de EASAC;
- La provisión de un mecanismo de respuesta rápida ante emergencias, como en la crisis del Ebola.

Se contemplan:

- Intervenciones de arriba abajo, cuando la Comisión requiera consejo científico.
- Intervenciones de abajo a arriba, cuando alguna de las academias proponga un tema que pueda ser de interés para la Comisión.

Finalmente, se considera la consulta a las redes de academias, a las academias y a las academias jóvenes, como luego indicaremos, así como la consulta a otros agentes.

Como objetivos del proyecto se incluye:

- Dar recomendaciones y sugerir alternativas de política pública basadas en la evidencia científica, de manera imparcial, independiente, equilibrada, transparente y apolítica.
- Contribuir al debate científico sobre los principales retos sociales actuales y futuros.
- Adoptar un rol de consejo, no de toma de decisiones.

Apoyar no sólo a la Comisión Europea, sino también a gobiernos nacionales y regionales, según se requiera.

EL MECANISMO DE CONSEJO CIENTIFICO Y LAS ACADEMIAS JOVENES

De manera explícita, el proyecto H2020 de apoyo al SAM indica la conveniencia de involucrar en el mismo a investigadores excelentes en el comienzo de su carrera mencionando:

- La Young Academy of Europe (YAE), relacionada con la Academia Europaea.
- La Global Young Academy (GYA), relacionada con la Inter Academy Partnership.
- Las Academias Jóvenes Nacionales, que incluyen destacados investigadores jóvenes en las distintas disciplinas y que han surgido ya en diversos países como Austria, Bélgica, Alemania, Dinamarca, Holanda, Noruega, Polonia, Escocia y Suecia, sólo en Europa,

La YAE es descrita por Gabaldón y la GYA y las AJNs son descritas por Moguerza en los artículos que acompañan al presente.

Mediante esta involucración, se persigue que en el

SAM:

- Se produzca una mejor integración de perspectivas científicas innovadoras.
- Se promueva el intercambio científico intergeneracional,

todo ello con energías renovadas.

CONCLUSIONES

El SAM y la Academia Joven constituyen dos oportunidades que permitirían impulsar las actividades de las Reales Academias. Por nuestra presencia, de una manera u otra, en EASAC, Euro-CASE, FEAM, ALLEA y AE, podremos seguramente beneficiarnos del impulso aportado por el SAM. Sería muy importante que, además, nuestras actividades se viesen potenciadas por las energías e ideas nuevas aportadas por una eventual Academia Joven en nuestro país. Que así sea.

REFERENCIAS

- Scientific Advice Mechanism.
<https://ec.europa.eu/research/sam/index.cfm>
- EASAC. European Academies Science Advisory Council.
<http://www.easac.eu/>
- Euro-CASE. <http://www.euro-case.org/index.php>
- FEAM. Federation of European Academies of Medicine.
<http://www.feam-site.eu/cms/>
- ALLEA. All European Academies.
<http://www.allea.org/Pages/ALL/4/731.bGFuZz1FTkc.html>
- Academia Europaea. <http://www.ae-info.org/>.

Academia Joven: Mundial y Nacional

Javier M. Moguerza

Profesor Titular de Estadística e Investigación Operativa. Universidad Rey Juan Carlos

Corresponding Author: javier.moguerza@urjc.es

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 347-349

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este artículo es concretar detalles sobre las Academias Jóvenes y sus objetivos y actividades. En concreto, se describen las principales características de la Academia Joven Mundial [1] (en inglés, Global Young Academy) y las Academias Jóvenes Nacionales.

En primer lugar es necesario definir qué es un científico joven a efectos de estas academias. Se entiende por científico joven aquel que está al inicio de su carrera investigadora independiente, es decir, al inicio de su carrera con capacidades propias e independientes (capacidad para dirigir grupos de investigación, elegir los temas en los que investiga, solicitar proyectos de investigación, etc). En resumen, al comienzo de su madurez creativa.

LA ACADEMIA JOVEN MUNDIAL

La Academia Joven Mundial tiene su origen en las reuniones de jóvenes científicos organizadas en septiembre de 2008 y 2009 por el InterAcademy Panel (IAP) [2] como parte del “Annual Meeting of the New Champions” (conocido como el Summer Davos) del World Economic Forum (WEF). Los participantes (jóvenes científicos de primer nivel invitados por el WEF) decidieron fundar la Academia Joven Mundial, orientada a promover la investigación interdisciplinar, intergeneracional e internacional. Se fundó definitivamente en Berlín, el 16 de febrero de 2010 [3].

Es importante dejar claro que la Academia Joven Mundial no es una asociación de Academias, es una Academia como tal, independiente, con unos criterios de selección de sus miembros basados en la excelencia científica.

La Academia Joven Mundial cuenta con el reconocimiento del IAP, el WEF, la UNESCO o las Naciones Unidas, habiendo sido invitada a participar en foros organizados por estas instituciones y organismos. En cuanto a apoyo económico, actualmente se financia con fondos de la Fundación Volkswagen y el Ministerio Alemán de Educación e Investigación. Su número máximo de académicos está limitado a 200. Hasta la fecha, han formado parte de ella 6 miembros españoles (4 actualmente en servicio activo y 2 exacadémicos). Los miembros se eligen por periodos de pertenencia de 5 años, con una edad media de 40 años (y aproximadamente entre 3 y 12 años desde que defendieron sus tesis doctorales). Cada miembro es evaluado por hasta 15 expertos antes de confirmarse su admisión. Los criterios de evaluación se basan estrictamente en la excelencia científica y en la

demostración de capacidades para transmitir a la sociedad el impacto de la actividad científica y cultural en la construcción de un planeta mejor. De hecho, el éxito de la Academia Joven Mundial se cimenta en la energía de sus miembros, que defienden apasionadamente el papel de la ciencia y la cultura como elementos clave para mejorar el mundo. La sede de la Academia Joven Mundial ha estado entre 2010 y 2016 en la Academia de Ciencias y Humanidades Berlín-Brandeburgo, y a partir de 2016 estará en la Academia Nacional de Ciencias Leopoldina Alemana. Los fines de la Academia Joven Mundial son:

- 1) Reunir a los mejores jóvenes científicos y creadores del ámbito cultural.
- 2) Dar voz a los jóvenes científicos y creadores de Cultura.
- 3) Motivar, capacitar y movilizar a los científicos y creadores desde el principio de su carrera.
- 4) Abordar temas de especial importancia actual a ser posible de forma multidisciplinar y temas interesantes para el desarrollo de los jóvenes.
- 5) Entre sus primeros objetivos y más importantes está el apoyar la creación y soporte de las Academias Jóvenes Nacionales y también su cooperación mutua para establecer redes mundiales culturales interconectadas.
- 6) Divulgar problemas educativos.
- 7) Fomentar la igualdad de género y de oportunidades en el acceso a la educación y a la carrera científica.

Algunos ejemplos de actividades de la Academia Joven Mundial son los siguientes:

- a) **Organización de reuniones internacionales de representantes de Academias Jóvenes Nacionales.** En dichas reuniones se intercambian experiencias y puntos de vista sobre las actividades que llevan a cabo las diferentes Academias Nacionales en sus respectivos países.
- b) **Programa de Jóvenes Embajadores Científicos.** La Academia Joven Mundial trabaja para reducir la brecha científica entre países desarrollados y países en vías de desarrollo. Este programa conecta a jóvenes científicos de países con grandes diferencias en su nivel de desarrollo y poca colaboración científica. Ejemplos de colaboraciones llevadas a cabo son: Estados Unidos con Indonesia, Chile y España con Sudáfrica, Países Bajos con Egipto, Suecia con Vietnam.
- c) **Elaboración de informes.** A modo de ejemplo, actualmente se está elaborando un informe sobre las posibilidades de promoción de los científicos en las diferentes zonas geográficas del planeta. Se ha comenzado por analizar aquellos países con representación en la

Academia Joven Mundial. Dicho informe estudiará, entre otros aspectos, el fenómeno de la fuga de talentos.

d) **Grupos de trabajo.** Los miembros de la Academia Joven Mundial se organizan en grupos de trabajo de cara a desarrollar las actividades y fines de la Academia. Entre otros, cabe mencionar el grupo de Mujeres en la Ciencia, que promueve la incentivación del papel de la mujer en el ámbito cultural, así como la igualdad de oportunidades en su desarrollo educativo y científico; y el grupo de Acceso Global a Software Científico y Educativo, cuyo fin es tanto el fomento del uso de software abierto de calidad como la negociación del abaratamiento de las licencias propietarias para países en vías de desarrollo.

LAS ACADEMIAS JÓVENES NACIONALES

El nacimiento y constitución de las Academias Jóvenes Nacionales son consecuencia de una corriente mundial que trata de llenar el espacio que hay entre la sociedad novel y las Academias Clásicas [4]. Se caracterizan por la agrupación dinámica de investigadores y creadores destacados durante un tiempo limitado. Se trata de Academias de cada país, independientes, con criterios de selección y de pertenencia similares a los de la Academia Joven Mundial. Varias notas diferencian y caracterizan estas academias:

- a) Excelencia de sus miembros juzgada por su producción investigadora y creativa y su motivación a los fines de la Academia.
- b) Selección a través de la colaboración con comités internacionales externos.
- c) Juventud de sus miembros (en torno a cuarenta años).
- d) Tiempo limitado de pertenencia activa a la Academia.
- e) Naturaleza interdisciplinaria.
- f) Representación permanente en el ámbito internacional del país a que pertenecen, por ejemplo, como proponentes de candidatos para la Academia Joven Mundial o como participantes en las Reuniones Internacionales de Academias Jóvenes que organiza la Academia Joven Mundial.

Es importante destacar que las Academias Jóvenes no pueden tener éxito sin la colaboración y el apoyo de las Academias Clásicas. Ambos modelos se complementan: Las Academias Clásicas reúnen por ámbitos lo más granado del conjunto investigador y creador maduro, acumulando y legando memoria de su experiencia creativa; las Academias Jóvenes, por sus características, reúnen temporalmente los activos investigadores del país en el tiempo real de producción.

Cada Academia Joven Nacional actúa además como el hogar de sus jóvenes y constituye un ancla de enganche para todos los jóvenes creadores que están fuera de las fronteras de su país de origen. Por ello, parte de sus miembros son jóvenes que realizan su trabajo en el extranjero. Con ellos se organizan actividades para dar a conocer, conectar y fomentar la investigación que se hace

por nacionales en todo el mundo, y transmitir su entusiasmo y motivación creativa a los diferentes países tanto de origen como de acogida.

Ejemplos de actividades de algunas de las Academias Jóvenes existentes son los siguientes:

- a) En la Academia Joven de Alemania [5], creada en 2000, se llevan a cabo iniciativas específicas relativas a la intersección entre la academia y la sociedad, destinadas a promover la ciencia entre adolescentes y estudiantes universitarios. Entre otras actividades, se organizan visitas a colegios e institutos con el fin de fomentar el interés por la ciencia entre los niños y jóvenes del país.
- b) En la Academia Joven de Holanda [6], creada en 2005, se organizan reuniones periódicas con periodistas científicos para difundir de manera divulgativa los últimos avances tanto nacionales como internacionales.
- c) En el “College of New Scholars, Artists and Scientists” de Canadá [7], creado en 2014, se desarrollan programas de tutorización de jóvenes brillantes para facilitar su acceso al ámbito cultural, científico y artístico. Esta Academia Joven es la primera creada en América, mostrando que la idea europea ha prendido también allí.
- d) En todas las Academias Jóvenes se participa, de alguna manera, en las directrices de la política científica, sobre todo, en lo relativo a los investigadores jóvenes en sus etapas pre y postdoctoral, organizando simposios y reuniones en esta área de trabajo.

CREACIÓN DE UNA ACADEMIA JOVEN EN ESPAÑA

La situación en cuanto a la creación de la Academia Joven de España, es la siguiente:

- El día 20 de octubre de 2014 se constituyó ante notario la Comisión Gestora para la creación de la Academia Joven de España, formada por los miembros españoles de la Academia Joven Mundial. Desde entonces, la Comisión Gestora ha trabajado activamente en el proyecto de creación de una Academia Joven en España.
- La solicitud de creación de la Academia Joven de España se presentó el 23 de febrero de 2015 ante el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. La solicitud incluye una propuesta de Estatutos para la Academia Joven de España, elaborada según el libro blanco de Estatutos para Academias Jóvenes de la Academia Joven Mundial, y que ha sido adaptada a las normas de nuestro país.
- En este momento es inminente la emisión del informe preceptivo para su creación por parte del Instituto de España. Una vez se emita dicho informe y sea recibido por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, éste deberá decidir sobre la viabilidad de creación de la Academia Joven de España previo informe de la Abogacía del Estado.

Es importante agradecer al Secretario General del Instituto de España la positiva acogida de la idea. Además, en la elaboración de la propuesta de creación de una Academia Joven en España han colaborado grupos de trabajo de las Academias Clásicas. A estos grupos y a sus Academias también se les debe agradecer su apoyo y

dedicación.

CONCLUSIONES

La edad temprana y la renovación de sus miembros sitúan a las Academias Jóvenes en una posición muy próxima a la sociedad de la que proceden, por lo que pueden comunicarse con ella con una mayor cercanía. Su naturaleza, en general interdisciplinaria, sin distinciones clásicas de ámbitos científicos, les permite servir con un alto nivel de eficiencia a los fines de mejora de la sociedad a la que se deben.

España no puede quedarse descolgada de este movimiento internacional para dar voz a los jóvenes investigadores y creadores. A modo de ejemplo de la necesidad para nuestro país de una Academia Joven que represente a España cabe reseñar que: i) En las dos Reuniones Internacionales de Academias Jóvenes (2012 y 2015) celebradas hasta la fecha, España no estuvo representada; ii) en el último año (2015) no hubo candidatos españoles seleccionados por la Academia Joven Mundial. La Academia Joven de España deberá promover una representatividad proporcional de España en la Academia Joven Mundial.

REFERENCIAS

1. Sitio web de la Academia Joven Mundial: <http://www.globalyoungacademy.net>.
2. Sitio web del IAP: <http://www.interacademies.net>.
3. Brück, T.; Beaudry, C.; Hilgenkamp, H.; Karoonuthaisiri, N.; Salah el Din Mohamed, H.; Weiss, G. A. "Empowering Young Scientists", *Science* 328(5974): 17, 2010, doi:10.1126/science.1185745.
4. Alberts, B. "The Young Academy Movement", *Science* 332(6027): 283, 2011, doi:10.1126/science.1206690.
5. Sitio web de la Academia Joven de Alemania: <http://www.diejungeakademie.de>.
6. Sitio web de la Academia Joven de Holanda: <http://www.dejongeakademie.nl>.
7. Sitio web del "College of New Scholars, Artists and Scientists" de Canadá: <http://rsc-src.ca/en/college-new-scholars-artists-and-scientists>.

La Academia Joven de Europa

Juan Antonio Gabaldón Estevan

Centre for Genomic Regulation (CRG), The Barcelona Institute of Science and Technology, Dr. Aiguader 88, Barcelona 08003, Spain. Universitat Pompeu Fabra (UPF). 08003 Barcelona, Spain. ICREA, Pg. Lluís Companys 23, 08010 Barcelona, Spain.

Corresponding author: toni.gabaldon@crg.es

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 3 (2016), pp. 350-351

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este artículo es proporcionar información sobre la motivación y características de la Academia Joven de Europa (YAE, Young Academy of Europe, en inglés). En el artículo se explica como la organización surgió por iniciativa de las primeras promociones de jóvenes investigadores de talentos galardonados con las ayudas Europeas del Consejo de Investigación (ERC, European Research Council, en inglés).

En primer lugar se describen las características de estas ayudas Europeas y el impacto que tuvieron en el sistema de promoción de la ciencia de frontera llevada a cabo por jóvenes investigadores. En segundo lugar se explican los principales objetivos y acciones de la Academia Joven de Europa y como el apoyo recibido desde su formación por la Academia Europea, academia de investigadores senior de alto prestigio, fue clave.

LA ACADEMIA JOVEN DE EUROPA

La YAE nació como respuesta a las primeras ediciones de las ayudas del ERC a proyectos dirigidos por investigadores en las etapas iniciales de su carrera como científicos independientes. Tales ayudas, inicialmente conocidas como ERC Starting Grants (ERC-StG), marcaron un antes y un después en los esquemas de financiación en la Unión Europea y países asociados [1]. Las vías de financiación tradicionales dentro del programa marco Europeo iban dirigidas a la movilidad de científicos entre países o a proyectos colaborativos entre grupos de varios estados miembros. En el caso de proyectos estrictamente científicos, no dirigidos a la formación de científicos, las temáticas prioritarias venían establecidas de abajo arriba, desde las instituciones Europeas, y con la participación de los estados miembros. Las ayudas del ERC eran fundamentalmente distintas, en tanto y cuanto a que la excelencia científica era el único criterio para la priorización de la financiación, siendo totalmente independiente de la temática que se establecía de abajo a arriba, partiendo del propio interés de los solicitantes y solo estructurada en paneles temáticos (amplios) para su evaluación por parte de pares. Además, desde sus orígenes, una parte sustancial de la financiación de las ayudas ERC se dirigió exclusivamente a jóvenes científicos, entendidos como tales aquellos que estaban entre 3 y 12 años desde la obtención de su doctorado y estaban en posición de dar un salto hacía su plena independencia científica o hacia su consolidación. Las ayudas ERC-StG tenían otras cualidades que existían en algunos programas de los

estados miembros pero que eran revolucionarias a escala europea. El proceso de aplicación y selección no era engorroso, e incluía una fase de entrevista para decidir entre los finalista. Además la financiación concedida era generosa, y por cinco años. Estas características atractivas hicieron que las ayudas ERC-StG ganasen popularidad y prestigio, siendo actualmente consideradas como uno de los mejores esquemas de promoción de la ciencia de calidad en Europa.

Los primeros agraciados con las ayudas ERC-StG, jóvenes investigadores liderando proyectos de excelencia en la frontera del conocimiento, compartían también inquietudes que iban más allá de la curiosidad científica y que abarcaban áreas desde el papel de la ciencia en la sociedad, hasta las actuales políticas científicas. El reconocimiento de que su perspectiva sobre estas materias era diferente de la de los científicos más establecidos, y la constatación de la necesidad de hacer llegar su voz a la sociedad y a los estamentos políticos europeos, llevó a varios de ERC-StG a organizarse y formar la Academia Joven de Europa (YAE) en diciembre de 2012 [2]. Los objetivos fundacionales de la YAE son los siguientes:

Proporcionar consejo y opinión sobre política científica en Europa desde una perspectiva más joven.

Fomentar la implicación de científicos jóvenes de primera línea en la definición de las estrategias futuras de investigación Europeas.

Promover políticas basadas en evidencias científicas en Europa.

Apoyar a otros jóvenes científicos en Europa en el desarrollo continuo de su carrera científica y en su capacidad para pensar de manera estratégica sobre el futuro de su propia disciplina.

Crear y fomentar una red de científicos jóvenes de primera línea en Europa, que cruce las barreras entre las diferentes disciplinas.

Es importante hacer notar que en el mismo mes de su formación la YAE estableció una alianza con la Academia Europaea (AE), en la que representantes de ambas organizaciones son invitados a las reuniones de las juntas directivas. Esta alianza proporcionó un impulso determinante que ha ayudado a la YAE a establecerse rápidamente. Por una parte la YAE se beneficia de parte de la infraestructura existente en la AE, como la utilización conjunta de los llamados Knowledge Hubs, oficinas distribuidas en varias regiones de Europa. Por otra parte nacer arropados por el reconocimiento de los investigadores Senior, facilitó el rápido reconocimiento de

diversas organizaciones científicas e instituciones a nivel Europeo.

A pesar de su corta duración, la YAE ya ha impulsado una serie de iniciativas de calado. El modo de trabajo de la YAE es a partir de grupos de trabajo que reúnen a miembros con intereses comunes y que establecen sus propias dinámicas y acciones. A través de listas de correo, un foro de discusión y, una vez al año, en asamblea general, se discuten las acciones llevadas a cabo, se establecen prioridades y se proponen nuevas acciones. La YAE ha participado en reuniones de política científica a nivel europeo sobre diversos temas que incluyen, la mujer en la ciencia, el papel de la ciencia ciudadana, las problemáticas asociadas con los distintos modos de publicación científica, y un largo etcétera. Muchas de estas iniciativas han dado lugar a aportaciones consensuadas y documentos de posicionamiento surgidos de la discusión entre muchos jóvenes científicos de distintos países y de distintas disciplinas. Animo al lector interesado a obtener más información sobre las iniciativas de la YAE en su página web [3].

CONCLUSIONES

La Global Young Academy (GYA), y la YAE, cumplen un papel fundamental, a nivel internacional y

europeo, respectivamente, en la participación de jóvenes investigadores de prestigio, en discusiones y acciones relacionadas con el desarrollo de la investigación en todas las disciplinas del saber, su relación con la sociedad, y el establecimiento de políticas científicas más adecuadas a las inquietudes y necesidades de la sociedad. A nivel nacional, se han creado diversas academias jóvenes en varios países y sería importante que España no perdiese este tren. Tal y como ha ocurrido con la YAE y la AE, y con las iniciativas a nivel nacional, sería de vital importancia que cualquier iniciativa de formación de una Academia Joven en España venga acompañada de un apoyo decidido por parte de los investigadores senior de reconocido prestigio, muchos de ellos representados en las diferentes Reales Academias, como la que nos acoge hoy.

REFERENCIAS

1. Heldin C.-H. (2008). "The European Research Council – a new opportunity for European science". *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9: 417–420.
2. Pain E. (2013) "Thomas Schäfer: Launching the Young Academy of Europe". *Science*.
3. Sitio web de la YAE: <http://www.yacadeuro.org>.



Puerto Sarmiento, Francisco Javier. *Medicamentos Legendarios. Mito y ciencia en la terapéutica clásica*. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia / COFARES, 2015. 385 págs., il. ISBN: 978-84-944103-1-4.

Antonio González Bueno¹

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

Corresponding author: agbueno@ucm.es

An Real Acad Farm Vol. 82, Nº 3 (2016), pp. 352-353

Received: December 29, 2015 Accepted: June 6, 2016

Language of Manuscript: Spanish

Los medicamentos nacieron de la magia, se gestaron vinculados a unos valores que superan a lo empíricamente comprobable; germinaron unidos al simbolismo y al rito; a ese fastuoso remedio que el Argifonte enseñó a Ulises, gracias al cual pudo eludir el maléfico filtro de nepentes con el que Circe, la diosa y hechicera de la isla de Eea, había transformado a sus compañeros en cerdos.

El concepto racional del medicamento es un proceso diacrónico, no sólo variable en función de las sociedades, sino dentro de cada una de ellas. Esa dimensión simbólica del medicamento está presente, aunque a veces nos cueste descubrirla.

La magia, en el texto que nos ofrece Javier Puerto, está en esas 385 páginas trabajadas con esmero, tejidas y destejidas cual si de la misma tela de Penélope se tratase, destinadas a abordar un complejo y poliédrico problema: las razones que conllevan a la utilización de los medicamentos a lo largo de la Edad Moderna.

El camino más sencillo hubiera sido hilar una serie de leyendas y curiosidades sobre esa utilización mágica del fármaco. No es éste el que ha seguido el autor, consciente de que -de haberlo hecho así- obtendría un texto ameno, acaso erudito, que resultaría entretenido a los lectores. Javier Puerto ha trabajado aquí con mentalidad y oficio de historiador; ha realizado un profundo ejercicio crítico sobre el complejo mundo del medicamento en la Europa de los siglos XV al XVIII, que le permite aportar una enriquecedora y novedosa propuesta, de interés para quien se ocupa del estudio de las mentalidades, y de la cultura en su conjunto. No nos ofrece un conjunto de prácticas vergonzantes para nuestro actual conocimiento técnico; tampoco sondea en los submundos de la marginalidad terapéutica; sólo interpreta una realidad social y cultural, la que nos transmiten los textos renacentistas, barrocos e ilustrados, sobre los esfuerzos continuos por vencer, si acaso temporalmente, a esa agotadora tragedia que es la enfermedad, cuya nosología quedaba aún velada para sus coetáneos.

Rito y símbolo se nos presentan asociados en estas actuaciones, como en otras muchas actitudes comunes en la vida cotidiana de la Europa de la Edad Moderna. Obrar como parte de un proceso de transmisión de conocimientos de carácter iniciático pues, en caso contrario, el rito sólo es un simulacro escenográfico. Y, aun cuando a nuestro entendimiento nos lo parezca, la preparación del medicamento bajo esta mentalidad mágica está muy alejada del acto teatral.

Afrontar el estudio de las otras mentalidades desde las limitaciones propias que imponen sus concepciones sociales, científicas o técnicas, es un ejercicio difícil; no basta la sola lectura de los textos, es imprescindible la elaboración de los contextos. Y, si bien los escenarios económicos, políticos o sociales tienen descripciones suficientemente válidas, el mundo de las ideas, la construcción conceptual de las líneas imperantes en el ámbito científico no están tan bien delineadas; y si lo están, lo es desde una óptica teórica, no siempre acorde con la aplicación práctica.

Conocer qué se aplicaba para curar es tarea de erudito, pero aventurarse en el por qué de su empleo es tarea de historiador. Obviamente, la erudición es labor básica y previa al trabajo del investigador; se explican así esas 698 notas en que Javier Puerto justifica sus razonamientos, pero el eje troncal de su argumento se expone a través del análisis de los materiales que constituyen su triplete terapéutico: Herbario, Lapidario y Bestiario, donde se analizan los simples, la evolución terapéutica y la historia particular de aquellos productos que componían el armario de un boticario europeo renacentista, barroco o ilustrado. Un inmenso anaquel de simples, cada uno de ellos con una idea, con una mito, con una leyenda, en la que nuestros antepasados quisieron encontrar la justificación a sus esfuerzos por combatir la enfermedad, aliviar el dolor y retrasar la muerte.

Las razones que condujeron a la utilización de los medicamentos en la Edad Moderna responden a un fenómeno complejo en el que los atisbos de racionalidad se maridan con las experiencias empíricas, dentro de unos planteamientos sociales, culturales y económicos variables y confusos, en los que la rememoración de lo hermético, de lo divino, de lo incontrolable, es visto con veneración cuando las interpretaciones racionales no resultan suficientes. Se unen a éstos otros dos principios más: el peso de la autoridad, real o supuesta, del autor que formula la propuesta, aun cuando ésta quede

envuelta en la fantasía; su opinión, más si su nombre es celebrado o responde a una transmisión directa de la divinidad, cobra más peso en la utilización del medicamento que la propia experiencia del quien lo lleva a la práctica. El segundo es el principio del mercado: aun cuando la inutilidad del producto fuera demostrada por la experiencia, si la situación económica lo exigía, siempre fue posible encontrar nuevos trastornos para los que ese artículo se mantuviera como objeto de comercio.

Ante esta enrevesada situación, un análisis simplista resulta, a todas luces, desacertado. Por ello el texto que nos ocupa bandea y ofrece interpretaciones alternativas a los usos de un mismo simple a lo largo de la Historia: desde visiones cosmogónicas a planteamientos alquímicos; desde la medicina astrológica a la espagiria. El acercamiento que Javier Puerto realiza al intrincado mundo de las ideas, dota a su obra de un carácter de historia global; es fácil desprestigiar a la Astrología desde nuestro actual paradigma, pero es imposible entender las razones que llevaron a nuestros ancestros a utilizar unos u otros simples, en uno u otro momento, si no nos imbuimos del concepto de *magia naturalis* con que ellos concibieron la Naturaleza; como también nos resultaría imposible entender, al menos hasta bien entrada la Edad Moderna, la vida cotidiana sin el auxilio de los horóscopos, básicos para cualquier actividad: desde las negociaciones en la Corte hasta las elección de la época más adecuada para la siembra.

Las razones que conllevaron al empleo de uno u otro medicamento, a decantarse por una u otra forma en su composición o en su posología, fue un camino difícil de recorrer para quienes nos antecedieron, siempre atentos al modo de evidenciar las 'propiedades ocultas' de los simples empleados, y que Javier Puerto examina a través de su amplio conocimiento de los arcanos, de la lógica alejada de la razón y de elementos relacionados bien con el inconsciente bien con la transmisión mítica y sentimental. En definitiva, un gran libro.



Información académica

Bartolomé Ribas Ozonas

Académico Secretario de la Real Academia Nacional de Farmacia

e-mail: secretaria@ranf.com

Reiniciada la actividad académica tras el ralentí estival de los meses de julio y agosto, en el mes de septiembre se celebraron tres tomas de posesión de Académicos Correspondientes extranjeros y una tertulia científica organizada por la Sección 2ª.

ACADÉMICA CORRESPONDIENTE EXTRANJERA

El 15 de septiembre tuvo lugar la Toma de Posesión como Académica Correspondiente extranjera de Dña. Maria Pia Abbraccio, PhD Professor of Pharmacology. President of the Research Observatory and President of the Filarete Foundation of the University of Milan, Italia, quien pronunció su discurso titulado: "Rejuvenating the old and diseased brain: the past, the present and the challenges of the future" "(Rejuveneciendo el cerebro viejo y enfermo: el pasado, el presente y los retos del futuro)".

Due to the dramatic increase of the aging population, western countries, including Europe, are now facing the burden of new economic, societal and healthy challenges related to the management of neurodegenerative conditions like stroke, Alzheimer's and Parkinson's disease and chronic neurological disorders like multiple sclerosis (MS) or amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Interestingly, recent data suggest that, irrespectively of their specific aetiopathology and clinical manifestations, all these diseases are invariably accompanied by an early loss of cognitive functions. There is thus an urgent need to identify new therapeutic approaches to both foster brain recovery after damage and, at the same time, prevent or ameliorate the associated cognitive decline. In the lecture, I will revise the seminal studies aimed at repairing and rejuvenating the brain, with special emphasis on the exploitation of stem cells for cell replacement and trophic regenerative therapies. I will highlight what we have learnt from the initial embryonic stem cells transplantation studies in Parkinson's disease patients, to then revise the role of endogenous stem cells in brain functional recovery and end up with the current approaches aimed at combining biotechnological and pharmacological agents to properly instruct these cells to repair the brain. A special focus will be devoted to therapeutic approaches ameliorating cognitive abilities to contrast pathological aging and brain functional deterioration.

Fue presentada por la Académica de Número de la RANF, Excm. Sra. Dña. María Teresa Miras Portugal.

TERTULIA CIENTÍFICA

El 22 de septiembre, se reanudó el Ciclo de Tertulias académicas con la intervención del Excmo. Sr. D. Ángel Villar del Fresno, Académico de Número de la RANF y Catedrático Emérito de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, que versó sobre "El pasado y presente de las especies útiles del género Artemisia, viejos remedios superados y fuente del más importante de los antipalúdicos actuales", las artemisininas, esenciales en el tratamiento combinado contra estas enfermedades.

En esta tertulia se trató sobre un género botánico modesto de la importante familia botánica de las Asteraceae, las Artemisias. Muchas especies han sido de importante aplicación farmacológica, hoy desechadas o en desuso. Han venido siendo utilizadas desde la antigüedad, en nuestra cultura desde griegos y romanos, como la reputada Artemisia china, empleada como antihelmíntica, hoy en desuso, por la toxicidad de la santonina y su baja efectividad como antihelmíntico; en la actualidad no se encuentra citada en ninguna Farmacología moderna ni recogida en Farmacopeas. Otro ejemplo es el conocido y utilizado Ajenjo (*Artemisia absinthium*) empleado por los egipcios y transmitido por los griegos como un reputado tónico, febrífugo y antihelmíntico. Así mismo fue utilizada en la elaboración de licores, absenta y vermut, hoy en día en algunos países prohibida su fabricación (Francia) o controlados, por su toxicidad, y un largo etc. Por último, en nuestros días con el descubrimiento, como antipalúdico potente, de la artemisinina, extraída de *Artemisia annua*, por la reciente premio nobel Youyou Tu y su equipo, nos permite hacer unas reflexiones sobre la utilidad de las plantas medicinales, las tradiciones etnofarmacológicas y los métodos actuales en la búsqueda y descubrimiento de nuevos

fármacos. La invitación por algunas ONGs del uso de A. annua como remedio antipalúdico casero, frente a las recomendaciones en sentido contrario de la OMS, son un excelente motivo de deliberación y debate en tertulia.

ACADÉMICO CORRESPONDIENTE EXTRANJERO

Posteriormente, ese mismo día, se celebró la Toma de Posesión como Académico Correspondiente extranjero del Dr. Excmo. Sr. Claude Monneret, Presidente de la Academia Nacional de Farmacia de Francia, y Director Emérito de Investigación en el CNRS, en el Instituto Curie de Paris. Unidad de CNRS-INSERM y quien pronunció su discurso titulado: “Accidente y serendipia en el descubrimiento de fármacos”.

Fue presentado por el Académico Secretario de la RANF, Excmo. Sr. D. Bartolomé Ribas Ozonas, con las palabras siguientes:

El Profesor Claude Monneret nació en Paris el año 1937. Es amante de la ciencia, del arte y de la humanidad, pero sobre todo de la familia y de la amistad. De esa virtud que denominamos fidelidad, lo que es uno de los puntos clave en su vida cotidiana, y del bien común para todos, y en el ambiente que le rodea en la sociedad.

Terminó su carrera de Farmacia con gran brillantez, en 1960, concediéndosele la «Laurea» en la Facultad de Paris V. A continuación realizó numerosos cursos de especialización, y el Doctorado en-Ciencias Físicas, con «mención muy Honorable», en la Facultad de Orsay en 1968.

Entre sus numerosas distinciones destacaré la de Laureado de la Facultad de Farmacia de Paris. Premio Nativelle, en 1969. Premio del Consejo de la Orden de los Farmacéuticos, en 1995. y el Premio Charles Mentzer de la Sociedad de Química Terapéutica, en 2004, etc.

Entre las funciones hospitalarias destacan, el Concurso del Internado en Farmacia al terminar su carrera, en Paris en 1960 y la plaza de Interno de los Hospitales de Paris, durante 1960 a 1964.

De sus funciones profesionales sobresalen Attaché de Recherche en el CNRS, Institut de Chimie des Substances Naturelles, octubre 1964. Chargé de Recherche, en 1968. Maître de Recherche, en 1977; Directeur de Recherche de primera clase, 1990. Y Director de la Unidad 176 (l'UMR 176) ocupándose del «Concepto, síntesis y vectorización de biomoléculas» de 1994 a finales de 2002. Y por último Directeur de Recherche Emérito, desde 2003, actividad en la que continua.

Entre otras funciones, destacan el ser Miembro por elección del Comité Nacional del CNRS (Section 16) (Conseil National de la Recherche Scientifique). Miembro del C. S.S. n° 5 de l'INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale). Miembro del Consejo Nacional de Universidades, Section 40, de Ciencias del Medicamento (1992-1998). Miembro del Consejo de la Sociedad de Química Terapéutica (1992-1996) y su Presidente en 2001 y 2002. Miembro por elección del Comité Nacional del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas (CNRS). (Section 20) entre 1974 a 1978; y entre 1994 à 2001. Y fue representante de la Comisión 20, del Consejo del Departamento de Ciencias de la Vida, de su Universidad.

Entre sus funciones Académicas señalamos, que durante tres años, del 2005 al 2008, ha sido Secretario de la Comisión de Investigación de la Academia Nacional de Farmacia y también en 2008 miembro de su Consejo. Presidente de la Comisión prospectiva y programación científica de la Academia Nacional de Farmacia de enero 2008 a diciembre 2014. Y en 2015 su Vice-Presidente. Desde 2005 ha sido Presidente del Comité de Premios de la Acad. Nal. de Farmacia. En 2015 fue nombrado Presidente de la Comisión de Asuntos europeos e internacionales, de su Academia. Y autor responsable del documento titulado «Vieille scientifique» accesible en la WEB de la Academia Nacional y en la de la Sociedad de Química Terapéutica. Y fue Miembro de las principales sociedades científicas de su especialidad, que no enumeramos, para no abusar de la paciencia de los asistentes.

Entre sus publicaciones se constata que superan los dos centenares (210) en revistas de gran impacto de su especialidad, como Biochemistry, Journal Organic Chemistry, Tetrahedron Letters, Organic Mass-Spectrometry, Phytochemistry, numerosas en Carbohydrates Research, Bio-Org. Med. Chem. Lett; Eur.J. Org. Chem. etc., y las prestigiosas francesas, como Comptes Rendus de la Société des Sciences, y otras. Ha publicado 1 libro de su especialidad científica; 12 Capítulos de libros. 8 Revisiones; y 10 artículos de divulgación. Ha presentado 160 Comunicaciones a Congresos. Posee 24 patentes, 20 de ellas con aplicación en Francia y el extranjero; y 3 libros de difusión para el gran público.

Sobre el tema escogido, señalamos que es de gran actualidad: “Accidente y Serendipia en el descubrimiento de fármacos”. El Diccionario de la Lengua Española de la Real Academia Española (RAE), describe la Serendipia como: «hallazgo valioso que se produce de manera accidental o casual». «El descubrimiento de la penicilina fue una serendipia».

La serendipia es la facultad de realizar un descubrimiento. El azar es más general que la serendipia, y esta constituye un factor clave en el proceso creativo, no solo en el ámbito de las artes y las humanidades, sino también es considerada como una parte integral en del desarrollo de las ciencias biomédicas y de los medicamentos. Esto es especialmente cierto en el ámbito de las Neurociencias, y del Cáncer. Es la sagacidad, intuición o la sabiduría, la que marca la diferencia entre el descubrimiento serendípico y la ausencia de descubrimiento, ante la presencia de algo desconocido relevante. Así se descubrió el cis-platino (cis-PtCl₂(NH₃)₂), en los años 1960s, detectando que se formaba en el electrodo de platino durante la electrólisis. Una sustancia que inhibía la fisión de la bacteria Escherichia coli. La bacteria alcanzaba hasta 300 veces su

tamaño normal pero la división celular no tenía lugar. Durante el discurso se mencionarán los descubrimientos del Depakine o ácido valproico, dándose cuenta casual, de que el compuesto activo estaba en realidad, en el disolvente, como ácido valproico, y no en los compuestos que buscaban. Con la misma intuición y sabiduría se descubrió el Taxotere, Paclitaxel, una pasta natural aplicada en el tratamiento de cánceres refractarios, derivado del *Taxus brevifolia*, o árbol del tejo. Asimismo, la serendipia acaeció para el descubrimiento de los fármacos psiquiátricos, con varios medicamentos como la Clorpromacina o Largactil®, primer medicamento anti-psicótico, la Imipramina o Tofranil, un antidepresivo, la Iproniacida o Marsilid®. El descubrimiento de las Benzodiacepinas como el Rimifon® en 1960, fue totalmente un hecho fortuito. El hallazgo del litio fue un hito para el tratamiento del Síndrome maniaco-depresivo, y constituye sin duda una de las mejores ilustraciones de la secuencia de eventos en conexión con el azar, que conducen al nacimiento de un medicamento. Otros medicamentos serán contemplados como los antileucémicos, Vincristina, etc. La actividad anticancerosa de los alcaloides de la *Vinca rosea*. Otros compuestos con propiedades antidiabéticas; la Vinflunina, compuesto indicado para el tratamiento del cáncer de vesícula, las sulfonilureas, y otros.

ACADÉMICO CORRESPONDIENTE EXTRANJERO

El 29 de septiembre tuvo lugar la Toma de Posesión como Académico Extranjero del Excmo. Sr. D. Marc van Hulle, Prof. del Departamento de Neurociencias de la Universidad Católica de Lovaina y Académico de la Real Academia de Medicina de Bélgica, quien pronunció su discurso titulado: “From intra- to extracranial Brain Computer Interfacing and back. A quest to reconcile biocompatibility, long-term stability and information throughput” (“Del cerebro intra- a extracranial en interfase y retorno computerizado. Una búsqueda de reconciliar biocompatibilidad, estabilidad a largo plazo e información en todo”).

El recipiendario fue presentado por el Académico Secretario de la RANF, Excmo. Sr. D. Bartolomé Ribas Ozonas, con las siguientes palabras: El Prof. Marc Van Hulle nació el 6 Abril de 1960, en Gante, Bélgica. Es actualmente Full Professor de Neuro-psico fisiología, en la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica y Académico numerario de la Real Academia de Medicina del Reino de Bélgica. Dirige el Grupo de Neurociencia Computacional, del Departamento de Neuro-psico-fisiología de la Facultad de Medicina, de su Universidad.

Su formación científica ha sido seria y profunda, como veremos a continuación. Marc Van Hulle recibió su Graduación en Ingeniería Electromecánica (automática) en la Universidad Católica de Limburg (Bélgica) en 1982. También se Graduó en Ingeniería Electrotécnica (Electrónica) en 1985; asimismo obtuvo los Grados en Ciencias Económicas en 1986; y en Ciencias Aplicadas, en la Universidad de Hasselt, Bélgica. Y además el doctorado en Ciencias Aplicadas en 1990, ambas pertenecen a la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica.

En 1992, y con el back-ground adquirido, se dedicó a la investigación sobre el cerebro, como científico postdoctoral Fullbright, trasladándose a EE.UU. al Departamento de Ciencias Cognitivas en el Massachusetts Institute of Technology (MIT), de Boston (USA). En 1998, obtuvo el título de Formación Educacional en la Universidad Católica de Lovaina donde sigue en la actualidad y desempeña su cargo docente de Full Professor dictando los cursos de “Neurociencia Computacional” desde 1988; y de “Interfases entre cerebro-computador” desde 2010. Para profundizar aún más en redes neuronales se trasladó al Imperial College de Londres, Inglaterra, del 1 de Agosto 2012 al final de Julio de 2015 periodo en el que publicó relevantes publicaciones en las más prestigiosas revistas de Neurociencias.

Entre sus cargos y funciones cabe destacar que ha obtenido los puestos en todos los escalones en la enseñanza docente de su Universidad, desde 1995 al 2006, en el que obtiene el nombramiento de “Full Professor”, en su Facultad de Medicina. El escaso tiempo disponible y para no alargarme evitamos nombrar la larga lista de escalones docentes e investigadores desempeñados. A pesar de su juventud, se convierte en una de las personalidades innovadoras de la tecnología en Neurociencias, que le acredita como eminente investigador por sus originales redes en neurociencias; y participar en numerosos grupos de trabajo.

Además de sus cargos docentes, dicta el “Master de Inteligencia artificial” y el “Master de Ciencia Biomédica”, en los que motiva y dirige numerosos estudiantes de doctorado. Sirva como ejemplo que, en este corto espacio de tiempo ha sido Supervisor de numerosos doctorandos, y de estudiantes de Master, con un total de 61 hasta la fecha.

El Académico Van Hulle es Miembro Ejecutivo del (Institute Electrical Electronic Engineering) “IEEE; / de la Signal Processing Society”. Editor Asociado de “IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems, Computational Intelligence and Neuroscience”, y también del “International Journal of Neural Systems”. También es Miembro del Grupo de trabajo sobre: “Program Committees of the Machine Learning in Signal Processing” (MLSP; (Workshops), y participante asiduo de numerosas Grupos de trabajo y Congresos de la especialidad, que no enumeramos por nuestro limitado tiempo.

En su haber se reflejan más de 250 publicaciones de gran impacto en su especialidad (peer reviewed). En Biochemistry; J. Neurochemistry; diversas en el Journal of Neuroscience, y numerosos trabajos en el International Journal of Neural Systems, con dos publicaciones en el 2016 una en prensa, en la que describe a partir de datos del EEG los múltiples estados emocionales a través de datos adaptativos con el abordaje teórico e información múltiple. En el Journal of Computational and Applied Mathematics. Otro en prensa en el “WIRES Cognitive Science. En el IEEE Transactions on Biomedical Engineering. Otros en el Applied Ergonomics. Y en el Biomedical Engineering; PLoS ONE; J. Neural Eng. Folia Phoniatica et Logopaedica. Neurocomputing. Transactions on Neural Networks. Y por su numerosa y relevante

contribución en el International Journal of Neural Systems, se le concedió el premio “Hojjat Adeli Award, en 2013.

Entre los premios y distinciones recibidas consta, que el nuevo Académico Marc van Hulle, en el 2003 recibió de la Reina Margarita IIa de Dinamarca el Grado de Doctor en Técnicas. En 2007 le fue concedido el título de “Laureado en el trabajo”. En el 2009 recibió el “Premio SWIFT” de la “Fundación Rey Balduino” de Bélgica, por sus trabajos sobre el “Mind Speller”, que recibió una cobertura mediática mundial (<http://www.mindspeller.com>). En 2010, recibió el “Red dot design award” por el “Mind Speller”, uno de los más prestigiosos premios de diseño. En 2009 y 2013 le fueron otorgados los Doctorados Honoris Causa de las Universidades de Brest State University y de la Yerevan State Medical University, respectivamente. Del 2008 al 2012 desempeñó la Cátedra “Cappemini Chair” recibida de Holanda en su propia Universidad. En 2012, recibió de la Academia Europea de Ciencias Naturales la medalla “Rudolf Virchow” por sus relevantes contribuciones en la investigación. En 2013 se le nombró Fellow del Inst. Electrical Electronic Engineering por sus contribuciones al procesado de señales biomédicas y modelos biológicos. En septiembre 2015 se le nombra “Mentor of Labour”, concedido por el Real Instituto Belga de élites en el trabajo Rey Alberto 1º. El 24 de octubre del 2015, como mencionamos antes, se le eligió Académico numerario de la Real Academia de Medicina de Bélgica. Y este año de 2016, fue acreedor del prestigioso Gran Premio Humanitario de Francia (con medalla Laureada de Oro) por sus trabajos en favor de la humanidad, concedida por el Senado de Francia, el pasado 9 de abril. Y este año, se le añade nuestra elección como Académico de esta Real Corporación.

Es miembro de numerosas sociedades científicas, que evitamos enumerar en esta corta exposición. Aunque sí comentamos que es Senior Member de la International Neural Network Society. Si en su joven vida científica, el nuevo Académico ha publicado más de dos centenares y medio de trabajos, en las más prestigiosas revistas de “Neurociencias”, es de esperar que en los próximos años siga cosechando otros numerosos premios a semejanza de lo que acabamos de oír. Asimismo que la personalidad y el trabajo de nuestro nuevo Académico proporcione a nuestra Corporación savia nueva en el reconocido prestigio que ya tiene. Y que participe en nuestras tareas y esté disponible en las de los grupos de investigación de nuestros Académicos. Y sea también un joven y efectivo miembro para las futuras actividades de nuestra Academia. Si en su juventud ha desempeñado una destacada actividad como Editor de 6 libros. Más de 12 capítulos de libros, editor asociado en 11 revistas, con más de 11 patentes la mayoría en Inglaterra, dirigido 29 proyectos de investigación y 61 dirección entre tesis y tesinas, tenemos por delante una larga línea de brillante y mutua colaboración, y está plenamente justificado que haya sido una excelente elección para esta Real Academia Nacional de Farmacia.

ACTOS EN LA RANF EN COLABORACIÓN CON OTRAS ENTIDADES

El 27 de septiembre se celebró la Jornada Científica, en colaboración con los laboratorios MSD, titulada EL FARMACEUTICO COMO AGENTE DE SALUD. La jornada contó con las ponencias de los Dres. D. Luis González, Presidente del COFM; Dña. Carmen Peña, Presidenta de FIP y D. Juan Tamargo, Catedrático de Farmacología de la UCM.

El farmacéutico, debe tener un papel activo para crear un adecuado entorno de salud, estar implicado en asesorar, prestar atención farmacéutica, hacer el seguimiento fármaco-terapéutico y evitar posibles efectos adversos de la medicación en los pacientes. Ofrecer una nueva imagen de la farmacia más integral, de acuerdo con las necesidades que los ciudadanos demandan. Estas acciones deben empezar desde la formación del Farmacéutico en la Universidad con cambios importantes en su formación en sanidad, industria, atención farmacéutica, medicamentos, etc., así como en los ámbitos de la nutrición y la dietética, y mantener esta formación continuada a lo largo de su actividad profesional. Recoger las novedades que deben generarse para poner al farmacéutico de la Oficina de Farmacia como un agente de salud clave de nuestra Sociedad, son nuestros puntos de referencia y a lo que va dirigido este encuentro.

HONORES RECIBIDOS

Entre los honores recibidos por nuestros Académicos, debemos destacar que a la Excm. Sra. Dña. María Teresa Miras Portugal, Académica de Número de la RANF, le ha sido concedida la Medalla Castelao. También ha sido nombrada Vocal del Consejo de Ciencia y Tecnología de la Comunidad de Madrid. Asimismo, será investida Doctora Honoris Causa por la Universidad Católica San Antonio de Murcia el próximo 11 de octubre.

La Académica de Número, Excm. Sra. Dña. María Vallet Regí figura en el puesto 24 entre los 300 investigadores más citados en Ciencia e Ingeniería de Materiales. El listado ha sido publicado el 13 de julio de 2016 por la empresa MSE Supplies que se ha basado en los datos recogidos en la base de datos Scopus de Elsevier. Asimismo destacamos y felicitamos a nuestro Académico Extranjero del College de France, Dr. Clement Sánchez por su puesto 20 en el ranking.

El pasado día 23 de septiembre en la Universidad Autónoma Gabriel René Moreno de Santa Cruz de la Sierra (Bolivia) en el seno de las primeras jornadas Académicas de Facultades de Farmacia y Bioquímica, los Decanos y Autoridades Académicas representantes de todas las Facultades de Farmacia y Bioquímica de las Universidades Públicas Bolivianas, acordaron por unanimidad designar al Excmo. Sr. D. Benito del Castillo, Académico de Número de la RANF, Asesor externo para la armonización de sus planes de estudio futuros.

A los recientes nombramientos debemos sumar el de nuestro compañero Académico de Número, el Excmo. Sr. D. Joan Guinovart Cirera que será investido Dr. Honoris Causa por la Universidad Andrés Bello de Chile.

El Académico Correspondiente de la RANF, Ilmo. Sr. D. Alfredo Martínez ha sido galardonado con el premio

HIPOCRATES por la Real Academia de Medicina y Cirugía del Principado de Asturias.

En el capítulo de obituarios, tenemos que lamentar el fallecimiento de nuestro Académico, el Excmo. Sr. D. Román de Vicente Jordana que tuvo lugar el pasado 19 de Julio de 2016, en Madrid. Descanse en Paz.

Bartolomé Ribas Ozonas
Académico Secretario RANF