

ANALES DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA



Volumen. 83, Número 6 - Qewdtg/"F lēlgo dtg"(2017)



¿Qué significa COIFFA?

Benito del Castillo García

Académico Vicepresidente de la Real Academia Nacional de Farmacia

e-mail: benitodelcastillo@farm.ucm.es

La Conferencia Iberoamericana de Facultades de Farmacia (COIFFA) fue refundada en 2007 en Monterrey (México), a partir de la Conferencia Hispanoamericana de Facultades de Farmacia (COHIFFA), creada en Mérida (Venezuela) en 1992.

La incorporación de Brasil y Portugal, hace más de 9 años como parte de la COIFFA, constituye un importante aporte para garantizar el logro de los objetivos y responsabilidades que, en las dos décadas anteriores, estuvieron bajo responsabilidad de los académicos de Latinoamérica y Europa.

Ahora, Portugal y España actúan como nexos de la Unión Europea (UE), a través de la Asociación Europea de Facultades de Farmacia (EAFP), con la COIFFA.

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

En mi condición de cofundador, miembro de la Comisión Permanente y Presidente, he tenido el privilegio de estar presente en estos más de 25 años de andadura, y de participar en todas las decisiones tomadas colegiadamente.

Desde 1992, hemos procurado aportar nuestra opinión independiente ante los problemas y situaciones que han afectado a la FARMACIA de nuestros países.

También hemos tenido presencia institucional directa “salvando siempre nuestra independencia e idiosincrasia”, en la Federación Internacional Farmacéutica (FIP), de cuya Sección Académica he sido el único Presidente de habla hispana o portuguesa; además, hemos asistido con voz autorizada a las reuniones de FEFAS, OFIL, AACF, entre otras.

Uno de los objetivos fundamentales de la COIFFA consiste en procurar la Armonización Académica de los estudios de Farmacia; a fin de lograr, en un futuro próximo, el libre desplazamiento de profesionales farmacéuticos entre nuestros países.

¡Qué mayor bien y servicio es haber procurado lograr colegas bien formados, científicamente, deontológicamente y, por tanto, profesionalmente!. Así, los farmacéuticos podremos seguir siendo útiles a la Sociedad y sentirnos orgullosos de ello.

Asimismo, los responsables de COIFFA forman un importante Grupo de Expertos que pueden actuar (siempre que sean requeridos por las distintas universidades) como expertos, jueces o pares académicos, para la visita, con fines de acreditación o certificación internacional de instituciones de docencia y/o investigación farmacéutica, de distintos países de nuestro entorno.

Igualmente, a través de COIFFA, se han establecido programas de colaboración conjunta para la impartición de programas docentes de postgrado, gracias al importante y trascendental intercambio de profesores y estudiantes. En este ámbito están trabajando activamente numerosos colegas.

Así, pues, las puertas permanecen abiertas a nuevos compañeros de otros países de nuestro ámbito.

Todas estas posibles actuaciones no pretenden inmiscuirse en las actividades de las instituciones o acciones propias de cada país. Sólo intentan aportar su experiencia, personal o colectiva; pero, eso sí, siempre a requerimiento de parte y con independencia académica.

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

Vocablos como crédito, título, grado, estancia, pasantía, licenciatura, maestría, doctorado, tesis (doctoral o de grado), tesina,... etc., deben tener una equivalencia perfectamente homologable. Igualmente, términos como escuela, instituto, facultad, departamento,... o bien sílabo, pensum, plan de estudios, carga horaria (teoría y práctica, dentro y fuera de la

universidad).

Otro tanto debe establecerse para fijar el nivel de exigencia mínimo, para ingresar en los estudios universitarios de Farmacia. Incluso, hace años, tras la reunión de Santiago de Chile, elaboramos un tríptico destinado a los estudiantes preuniversitarios, titulado: “¿Quieres ser farmacéutico?”.

Para las enseñanzas de pregrado se ha recomendado ya, por parte de COIFFA, un mínimo de contenidos curriculares, así como su posible denominación.

Muchas universidades ya se sienten orgullosas de haber introducido el modelo COIFFA, en los nuevos planes de estudio de Farmacia, con la total aquiescencia de las autoridades académicas correspondientes.

Ahora se podrá pertenecer a COIFFA, individual o colectivamente, tanto como institución universitaria independiente o como asociación nacional. Todos tienen cabida y una importante misión que cumplir.

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

¡Os esperamos en noviembre, en nuestra reunión en Ecuador!

Prof. Dr. Farm. Benito de Castillo García



Antimicrobial resistance. Some aspects of a big problem

Title in Spanish: *La resistencia antimicrobiana. Algunos aspectos de un grave problema*

M.^a del Carmen Avendaño López^{1,*}

¹Catedrática de Química Orgánica y Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.

ABSTRACT: We comment here the emergency, dissemination, characterization and treatment of several multidrug-resistant bacteria, the danger of antibiotics overuse and bad use, the challenges of antibacterial discovery, and the study of other approaches such as modulation of bacterial metabolism to combat antibiotic resistance.

RESUMEN: En esta mini-revisión se analiza la emergencia, diseminación, caracterización y tratamiento de las bacterias multirresistentes, el peligro del abuso y mal uso de los antibióticos, las dificultades para el descubrimiento de nuevos antibacterianos, y el estudio de otros enfoques como la modulación del metabolismo bacteriano para combatir la resistencia a los antibióticos.

*Corresponding Author: avendano@ucm.es

Received: January 18, 2018 Accepted: January 19, 2018

An Real Acad Farm Vol. 83, N° 4 (2017), pp. 380-391

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

La **resistencia antimicrobiana (RAM)** se produce por evolución natural a través de mutaciones genéticas de los microorganismos. Los ciclos de replicación bacteriana facilitan la aparición de mutaciones *de novo* ya que una sola bacteria, por ejemplo *Staphylococcus aureus*, puede replicar a través de 10 generaciones y originar 1 millón de descendientes en menos de 12 horas. Cada ciclo de replicación es una oportunidad para la mutación y permite la aparición de factores genéticos que contribuyen a la RAM. La resistencia también puede adquirirse como consecuencia de la exposición de los microorganismos durante un tiempo a la acción de antibióticos u otros quimioterápicos. En su evolución, las bacterias han desarrollado múltiples mecanismos de resistencia: producción de enzimas inactivantes, mutación de lugares

de acción o dianas moleculares, sobreexpresión de bombas de eflujo, etc. La presión selectiva ejercida por el uso de antibióticos en los últimos 70 años ha acelerado el ritmo de su aparición y ha multiplicado sus mecanismos de actuación de una forma mucho más eficaz que la ocurrida a través de millones de años.

Actualmente, el arsenal de antibióticos disponible no nos protege frente a infecciones de bacterias Gram-negativas y de otras especies o subespecies de bacterias patógenas. La producción de carbapenemasas, enzimas inactivadoras de antibióticos carbapenémicos (Figura 1), es uno de los mecanismos ocurridos más recientemente y uno de los más preocupantes, ya que estas enzimas inactivan prácticamente el último escalón terapéutico frente a microorganismos Gram-negativos multirresistentes (1).

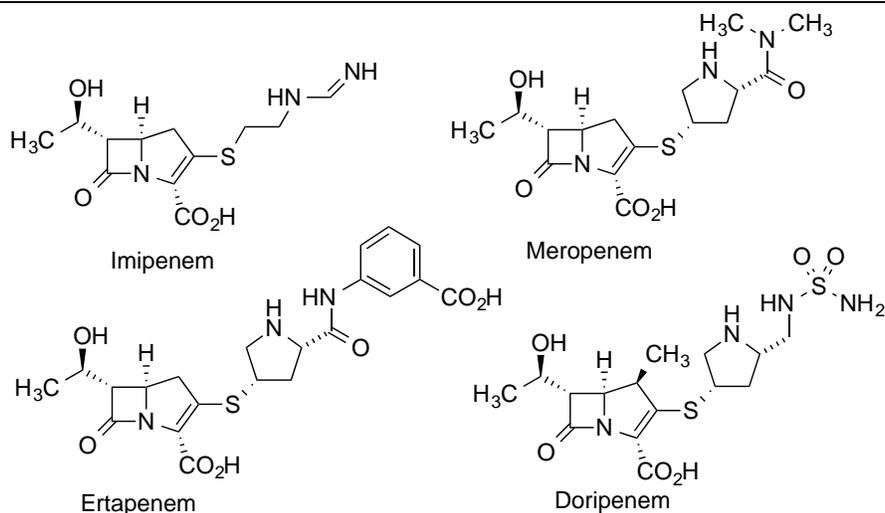


Figura 1. Ejemplos de antibióticos carbapenémicos.

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en un problema tan grave para la salud mundial que, ya en el año 2011, fue el tema del *World Health Day*: “*Antimicrobial resistance: the today’s no action is the tomorrow’s no cure*” (2). Debido a que cuando una bacteria se hace multirresistente no suele haber alternativas terapéuticas, las consecuencias pueden ser fatales. Se ha asegurado que si no se frena este problema, en unas décadas podríamos volver a la era anterior al descubrimiento de los antibióticos y la medicina moderna se vería comprometida en su conjunto, ya que no se podrían realizar tratamientos anticáncer, trasplantes, cesáreas, o cirugías complejas porque no se podrá hacer frente a las bacterias.

En 1967, una visión optimista que menospreciaba la increíble capacidad que tienen las bacterias para intercambiar su material genético y adaptarse a situaciones adversas por selección natural (3), anunciaba que gracias a

los antibióticos y a otros agentes quimioterápicos, el problema de las infecciones bacterianas había terminado. Sin embargo, la evidencia demostraba lo contrario. Por ejemplo, el porcentaje de infecciones insensibles al tratamiento con penicilina causadas por *Staphylococcus aureus*, una bacteria anaerobia Gram-positiva que coloniza a una de cada tres personas y puede originar infecciones tan graves como la neumonía, la meningitis, o el shock tóxico, era en 1955 de un 13%. En 1988, esta cifra ascendió hasta un 91%. Además, muchas cepas de *S. aureus* son ahora resistentes también a otros antibióticos β -lactámicos (Figura 2) como oxacilina y amoxicilina, y han comenzado a desarrollar resistencias a meticilina (*meticillin resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) y al glicopéptido vancomicina (Figura 3), antibióticos que en otros tiempos se consideraban como “último recurso” para las infecciones más serias (4).

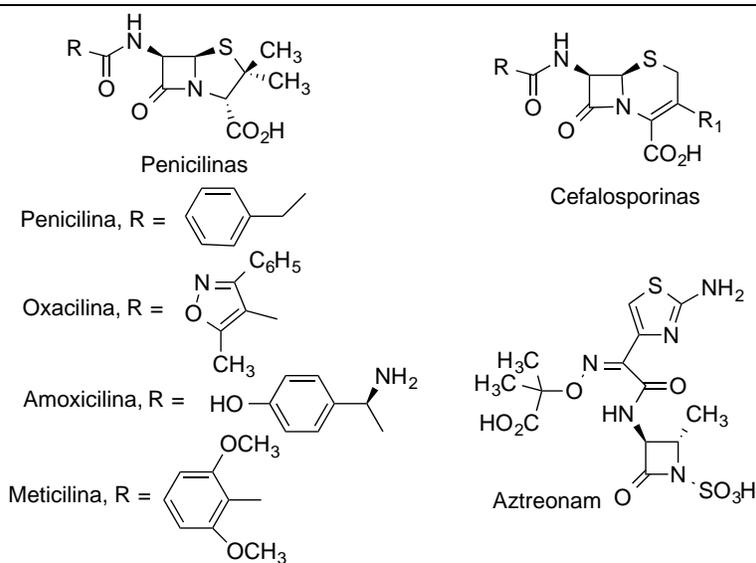


Figura 2. Ejemplos de antibióticos β -lactámicos.

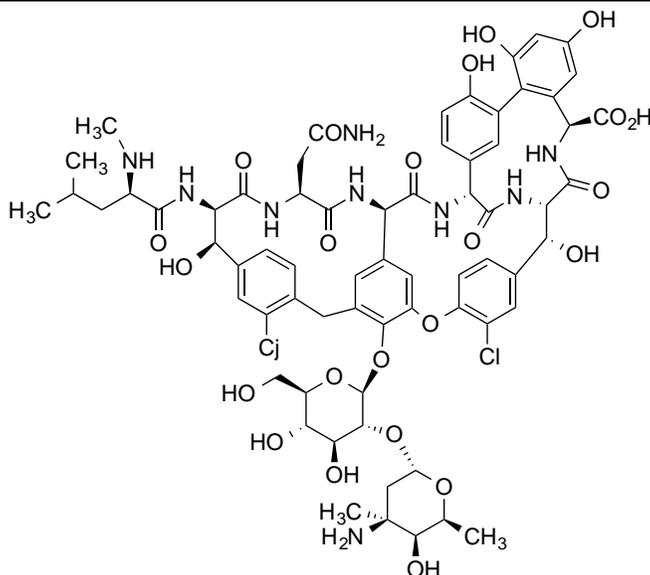


Figura 3. Estructura de vancomicina.

La RAM no es solo un peligro para la salud, sino que también lo es para la economía. Según Informes del Banco Mundial publicados en 2016 y 2017 se calcula que este problema es responsable de una caída del PIB mundial de al menos un 1,1%, lo que equivaldría a un billón de dólares al año hasta 2030 (5).

2. EMERGENCIA Y TRATAMIENTO DE LAS BACTERIAS MÁS PREOCUPANTES

De entre las bacterias que han evolucionado hasta desarrollar resistencias, unas de las más peligrosas son las **enterobacterias**, importantes patógenos nosocomiales debido a la dificultad de su tratamiento condicionada por su multiresistencia intrínseca y por la adquisición de nuevos genes de resistencia a través de plásmidos o transposones (6). Los genes responsables de la resistencia antimicrobiana, como los que codifican las bombas de eflujo a múltiples fármacos en la bacteria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, se encuentran en los cromosomas bacterianos y son generalmente inmóviles. Por el contrario, las transportados por plásmidos, pueden diseminarse rápidamente entre las bacterias de la misma o diferente especie. Los **plásmidos**, normalmente hebras circulares de ADN no cromosómico, suelen transportar múltiples genes de RAM que pueden pasar de una bacteria a otra a través de la conjugación (transferencia horizontal de genes a través de una breve conexión del citoplasma de 2 bacterias). A veces, estos genes se adquieren a través de elementos genéticos transponibles o **transposones**, secuencias de ADN móvil que pueden integrar un cromosoma bacteriano o un plásmido.

Las infecciones de las enterobacterias, especialmente las producidas por la bacteria Gram-positiva *Enterococcus faecalis*, son cada vez más frecuentes en los hospitales. Aunque los enterococos representan menos de un 0,1% de la **microbiota intestinal** de los humanos y de otros mamíferos, sus linajes (caracterizados por la secuenciación de sus genomas) (7), lideran el ranking de las resistencias a múltiples fármacos. Además de ser *multidrug resistant* (MDR), lo que les da una amplia ventaja frente a sus competidores presentes en el intestino de los pacientes tratados con agentes antimicrobianos, son resistentes a los protocolos de desinfección hospitalaria y, por tanto, son muy persistentes en dicho ambiente. Entre los enterococos, los fenotipos resistentes a múltiples fármacos (MDRs) parecen correlacionarse con la pérdida de los sistemas de defensa CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas). Es probable que esta circunstancia evolutiva tuviera como objetivo proteger a las bacterias de los fagos. Los genomas de los enterococos MDR son con frecuencia mayores que los de otras bacterias comensales por el aumento de sus elementos móviles, que se adquieren rápidamente y después se transmiten. Por ejemplo, la divergencia de *E. faecalis* respecto a *Melissococcus plutonius*, un género bacteriano muy próximo a los enterococos, supuso para el primero de estos microorganismos una ganancia de 335 genes, lo que le permitió metabolizar el ácido úrico y utilizarlo como fuente de carbono y nitrógeno en el

intestino de los insectos y otros animales que excretan la mayor parte de sus residuos nitrogenados convertidos en dicho ácido. Este cambio genético que permite la utilización de ácido úrico es uno de los muchos producidos en la especiación de los enterococos, que están relacionados en su mayoría con el metabolismo y la utilización de los hidratos de carbono o con la absorción y metabolismo de aminoácidos, unas características que podrían ser muy útiles para luchar contra las resistencias, como se verá más adelante.

Desde que en los años 1940 se introdujo la penicilina en la práctica clínica, los antibióticos han salvado la vida de millones de seres humanos, pero lo que no se sabía entonces y aún hoy resulta sorprendente, es que las bacterias estaban preparadas para luchar contra ellos mucho antes de que Alexander Fleming descubriese la penicilina. Algunas muestras de suelos permanentemente congelados (permafrost) han mostrado la presencia de estas bacterias 30.000 años antes del descubrimiento de los factores de resistencia a la penicilina, y también se han identificado estos factores en muestras extraídas de un ecosistema aislado durante más de 4 millones de años (8).

Aunque es difícil de probar, una gran cantidad de datos apoyan la propuesta de que la **especiación de los enterococos** fue paralela a la diversificación de sus hospedadores, emergiendo al final de la Extinción del Pérmico nuevas especies seleccionadas para sobrevivir a la desecación y a la falta de recursos que supuso el salto de los hospedadores acuáticos a los terrestres. Recientemente, científicos del MIT y de la Universidad de Harvard han estudiado la evolución de los enterococos patógenos *MDR* a través de varios siglos utilizando técnicas moleculares avanzadas, como la denominada *molecular clock*. Ésta calcula el tiempo prehistórico en el que divergieron dos o más formas de vida deduciéndolo de la velocidad a la que han mutado sus biomoléculas, generalmente secuencias de nucleótidos. Refinada con informaciones obtenidas a partir de restos fósiles, esta técnica ha permitido concluir que la resistencia a múltiples fármacos que caracteriza a estos enterococos comenzó a gestarse desde su aparición en nuestro planeta hace unos 425-500 millones de años, al mismo tiempo que los animales empezaron a pasar de los océanos a la tierra (9). La terrestrialización de los animales requirió que la flora intestinal se adaptara a ciclos de aislamiento y desecación hasta su reentrada en la cadena alimenticia, y parece que los enterococos se adaptaron a estas condiciones endureciendo su pared celular para hacer frente al estrés ambiental, una característica que les permite persistir en el ambiente hospitalario de nuestros días.

La Organización Mundial de la Salud elaboró en marzo de 2017 una lista de “**patógenos prioritarios**” RAM, que incluye las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana, transmitiendo a los gobiernos la imperiosa urgencia de desarrollar nuevos antibióticos para combatirlos. Estos patógenos se encuadran en tres categorías (prioridad crítica, elevada, o media), según la urgencia para encontrar nuevos antibióticos. El primer

grupo incluye bacterias que han adquirido resistencia a un elevado número de antibióticos: *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos; *Pseudomonas aeruginosa*, también resistente a los carbapenémicos y varias enterobacteriáceas productoras de β -lactamasas, como *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, y *Proteus*. El aumento de la frecuencia con que aparecen en infecciones nosocomiales cepas de organismos Gram-negativos resistentes, en especial de *Pseudomonas aeruginosa*, es altamente preocupante porque las opciones para su tratamiento son extraordinariamente limitadas. El segundo y tercer grupo incluyen otras bacterias que exhiben una fármacorresistencia creciente. Dentro del segundo, de prioridad elevada, encontramos a *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina; *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina y a la vancomicina; *Helicobacter pylori*, resistente al antibiótico macrólido claritromicina (Figura 4); especies de los géneros *Campylobacter* y *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas; y *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a la cefalosporina y a las fluoroquinolonas. En el tercer grupo, de prioridad media, se incluyen *Streptococcus pneumoniae*, sin sensibilidad a la penicilina; *Haemophilus influenzae* resistente a la ampicilina, y especies del género *Shigella* resistentes a las fluoroquinolonas.

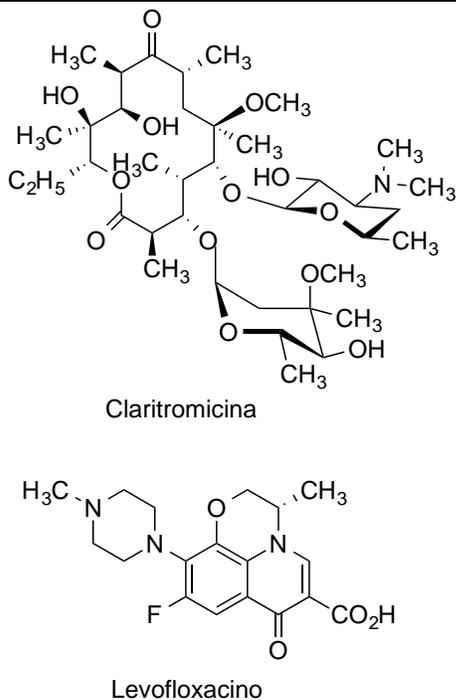


Figura 4. Estructuras de claritromicina y ejemplo de fluoroquinolona.

Se conocen varios genes asociados a la RAM, entre los que se encuentra al gen *aphA6*, que codifica la enzima 3'-aminoglicósido fosfotransferasa tipo VI y confiere resistencia al antibiótico aminoglicosídico amikacina (Figura 5) en diferentes especies de *Acinetobacter* (10).

Los genes que codifican β -lactamasas de amplio espectro y carbapenemasas, generalmente transportados

por plásmidos, son responsables de que las bacterias Gram-negativas sean resistentes a importantes clases de antibióticos. Las β -lactamasas son enzimas que hidrolizan los anillos β -lactámicos presentes en antibióticos comunes como las penicilinas, las cefalosporinas y el aztreonam, mientras que las carbapenemasas, que se clasifican en serinobetalactamasas (codificadas por genes como *KPC* u *OXA* entre otros) y metalobetalactamasas (MBLs, un subgrupo de β -lactamasas codificadas por genes como *VIM-1*, *SPM-1*, o *IMP-1*, entre otros), son capaces de hidrolizar antibióticos carbapenémicos, como imipenem, meropenem, ertapenem o doripenem, prácticamente el último escalón de tratamiento frente a bacilos Gram-negativos multirresistentes.

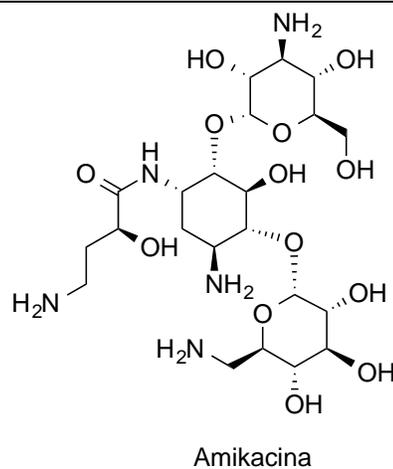


Figura 5. Estructura de amikacina.

En 1996 se aisló en un hospital de Carolina del Norte la primera cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas (*KPC*), generando una preocupación en el mundo científico que fue superada en el año 2001 por un brote de estas cepas detectado en hospitales de New York y New Jersey que se diseminó por gran parte de EEUU y muchos países iberoamericanos (11). En la primera década del 2000, empezó a observarse la presencia de carbapenemasas en el Suroeste Asiático y en Europa. El gen *VIM-1*, que codifica la enzima *Verona integron encoded metallo- β -lactamase*, se aisló en Italia en 1999 en cepas de *P. aeruginosa* (11). El gen *blaNDM-1* (*New Delhi metallo-beta-lactamase*) se identificó por primera vez en diciembre de 2009 en un paciente sueco hospitalizado en Nueva Delhi infectado por *Klebsiella pneumoniae* (13). Actualmente se suele encontrar en bacterias Gram-negativas, como la mencionada *Klebsiella pneumoniae* y en *Escherichia coli*, aunque puede llegar a otras cepas por transferencia horizontal de genes. La familia de genes *OXA-48* se descubrió en 2001 y actualmente se ha extendido por todo el mundo. Debido a estas nuevas resistencias, las infecciones causadas por organismos productores de carbapenemasas se tratan con combinaciones de antibióticos, pero como el uso desmedido de carbapenémicos es un factor importante en la generación y selección de organismos productores de carbapenemasas, lo idóneo sería limitar su uso para

prolongar su utilización futura.

El año 2016, se detectó en Pensilvania en una paciente de 49 años con infección urinaria una cepa de *E. coli* portadora del gen *mcr-1* (*mobilized colistin resistance*), que confiere **resistencia a colistina** (Figura 6). Este hallazgo perturbó a algunos científicos del Walter Reed Army Institute of Research y del Walter Reed National Military Medical Center, ya que anunciaba “la emergencia en EEUU de bacterias totalmente resistentes a los medicamentos” (14). El gen *mcr-1* se había descubierto el año anterior en varios cerdos y pacientes del Sur de China y, dado que se transporta por un plásmido, puede copiarse y transferirse fácilmente a otros tipos de bacterias. De hecho, se ha encontrado también en *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*

aerogenes, y *Enterobacter cloacae*, y en 2017 ya se ha detectado en más de 30 países de los 5 continentes. La colistina, también llamada polimixina E, es un antibiótico polipeptídico que se une a lipopolisacáridos y fosfolípidos de la membrana celular externa de bacterias Gram-negativas. Empezó a usarse en clínica en los años 1960, pero dejó de utilizarse en humanos en los años 1980 debido a su toxicidad renal, aunque se siguió utilizando mucho en ganadería. Cuando las bacterias empezaron a desarrollar resistencias frente a los antibióticos modernos y aparecieron las “bacterias de pesadilla”, como las enterobacterias resistentes a antibióticos carbapenémicos anteriormente mencionadas, la colistina se reutilizó como un antibiótico de último recurso (15).

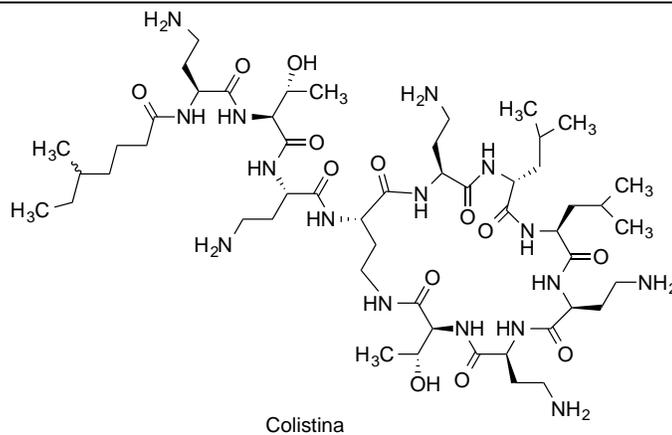


Figura 6. Estructura de colistina.

La bacteria *Clostridium difficile* es la principal causa de infecciones asociadas a la atención de la salud y una de las causantes de infecciones nosocomiales. Sus esporas, diseminadas por los pacientes infectados o colonizados, persisten en las superficies de los objetos. Aunque esta bacteria no suele ser invasiva, elabora exotoxinas que dañan la mucosa del colon produciendo la infección y el desarrollo de complicaciones graves. Generalmente, las infecciones leves o moderadas se tratan con agentes antimicrobianos como el metronidazol oral, y las infecciones recurrentes se tratan con vancomicina oral o con agentes más novedosos como la fidaxomicina (Figura

7). Las infecciones graves o fulminantes, que no responden a la vancomicina o a la fidaxomicina, pueden tratarse quirúrgicamente, pero un método estándar muy eficaz para los pacientes con recaídas recurrentes es el **transplante de microbiota fecal** (TMF, que implica la transferencia de heces con un microbioma fecal sano). En el microbioma de la especie humana se encuentran unas 1.100 especies diferentes de bacterias, aunque en cada individuo existen unas 160 especies, de las cuales 57 se comparten por el 90% de las personas.

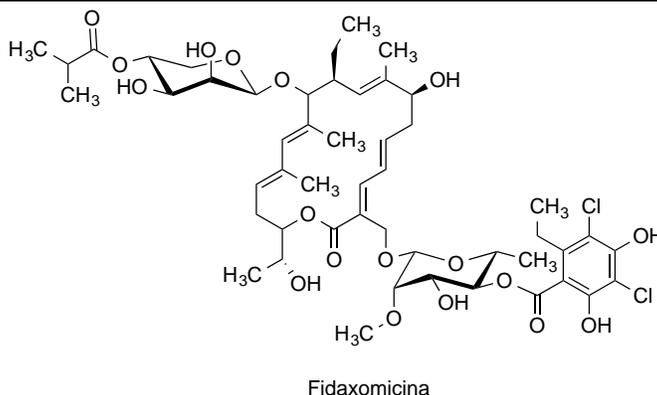


Figura 7. Estructura de fidaxomicina.

Otro microorganismo resistente cada vez más preocupante es *Neisseria gonorrhoeae*, causante de la gonorrea, que ha desarrollado resistencia a antibióticos orales como azitromicina, fluoroquinolonas y la cefalosporina oral cefixima. El aumento de resistencia a estos agentes orales dejó a la ceftriaxona (Figura 8) como

el último tratamiento fiable para la gonorrea, pero el inicio de resistencias ha indicado la necesidad de aumentar las dosis y establecer combinaciones de fármacos, como azitromicina combinada con ceftriaxona, con gentamicina, o con gemifloxacina.

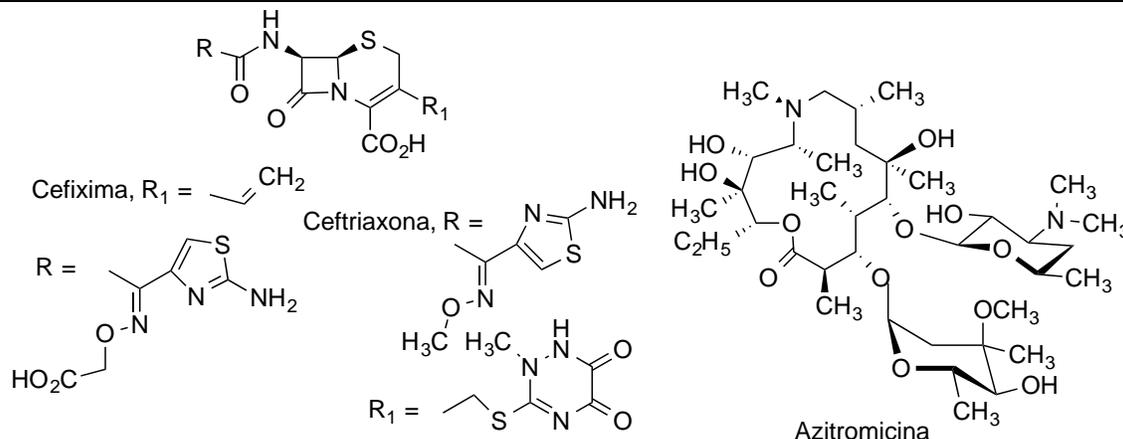
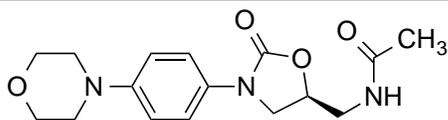


Figura 8. Estructura de azitromicina, cefixima y ceftriaxona.

Otra gran preocupación de salud pública en las últimas 2 décadas, que ha sido anteriormente mencionada, es *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA). La resistencia a la metilina está conferida por el gen *mecA*, aunque muchos aislados de MRSA también contienen β -lactamasas y genes que confieren resistencia a la clindamicina. La vancomicina fue el único antimicrobiano disponible y útil durante décadas para la terapia intravenosa efectiva de las infecciones por MRSA. Las cepas de MRSA con menor sensibilidad a la vancomicina han adquirido el gen de resistencia *vanA* y tienen engrosadas las paredes celulares que contienen dipéptidos de unión a este fármaco, lo que bloquea su acción y provoca una menor concentración en el interior de la bacteria. Aunque desde hace unos años están disponibles nuevos fármacos que son una alternativa a la vancomicina, como linezolida (una 2-oxazolidona) y posteriormente el lipopéptido daptomicina y el glicolipopéptido oritavancina (con estructuras muy complejas), se recomiendan escasamente para las infecciones que afectan a órganos comprometedores como la endocarditis o la osteomielitis.

por lo que puede compararse en cierta forma al problema del cambio climático. Tenemos conocimientos y herramientas para enfrentarnos a ellos, pero son asuntos complejos y queremos creer que puede surgir de algún modo una solución providencial. La actividad humana, en especial el uso de antibióticos para promover el crecimiento de los animales, ha tenido un papel muy importante en la evolución de la RAM. La Food and Drug Administration (FDA) estima que este uso representa el 80% de todos los antibióticos consumidos, y de ellos, el 74% no se administra para tratar o prevenir una infección. Además del paso al hombre de las bacterias resistentes por el consumo de esta carne, entre un 50 y un 90% de los principios activos de los antimicrobianos (como las fluoroquinolonas) no sufren modificación alguna a su paso por el tracto intestinal, sea del hombre o del ganado, por lo que son excretados casi en estado puro. La depuración de aguas residuales urbanas degrada una parte importante de los antibióticos consumidos por el hombre, pero los destinados a uso animal llegan sin modificaciones a la naturaleza pudiendo pasar a la cadena humana a través de las frutas y hortalizas. Debido a la evidente asociación entre el consumo de antibióticos por los animales y la existencia de organismos comensales resistentes a las mismas clases de antibióticos en los seres humanos, la FDA publicó en 2016 su *Final Rule on Antimicrobial Animal Drug Sales and Distribution Reporting*. En ella se requiere que los productores de medicamentos veterinarios con actividad antimicrobiana envíen informes anuales sobre la cantidad que se vende, para mejorar la transparencia de su uso. La Unión Europea, por su parte, ha instado a que sus países miembros prohíban o eviten la utilización de los antibióticos para el crecimiento de los animales y fomenten el suministro voluntario de carne libre de antibióticos por los proveedores de alimentos.



Linezolida

Figura 9. Estructura de linezolida.

3. CONSECUENCIAS DEL ABUSO Y MAL USO DE LOS ANTIBIÓTICOS

El problema de la resistencia antimicrobiana es consecuencia de la conducta poco responsable del hombre y puede tener consecuencias drásticas para la humanidad,

Estas advertencias parecen poco eficaces. Según un

informe conjunto publicado a principios de 2017 por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria, la Agencia de Medicamentos Europea y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades, en España se registró en 2014 un consumo de 3.291 toneladas de sustancias activas antimicrobianas, lo que la convertía en el país con mayor consumo de antibióticos en el conjunto de la Unión Europea, a pesar de que el Ministerio de Sanidad puso en marcha en 2013 un Plan Nacional de Resistencia Antibiótica muy completo. En el libro “Una historia verdaderamente fascinante: 75 años del descubrimiento de los antibióticos”, editado en 2004 para celebrar el 75 aniversario del descubrimiento de la penicilina y los 60 años de su utilización clínica en España, los profesores José Ángel García Rodríguez y José Prieto Prieto advertían que el consumo diario de antimicrobianos en España “debería disminuir porque si no se utilizan bien podría llegar a desaparecer”.

También es evidente que **la administración de antibióticos a humanos no siempre es adecuada**. Éstos se han dispensado y se dispensan en muchos países sin receta médica o con una selección o duración incorrectas. El uso inapropiado de los antibióticos en los hospitales se ha abordado con un gran esfuerzo, y se han aplicado programas para optimizar su selección y reducir el abuso de los antibióticos de amplio espectro. Este problema puede darse también en un amplio porcentaje de las consultas ambulatorias, y en la venta directa al consumidor (sobre todo fuera de EEUU y Europa).

Para mayor complejidad, la **duración adecuada de los tratamientos** con antibióticos no está bien determinada. La Organización Mundial de la Salud (OMS), durante la Semana Mundial de Concienciación sobre el Uso de Antibióticos realizada en 2016, recomendó que «se complete siempre el tratamiento aunque el paciente se encuentre mejor, ya que detenerlo antes de tiempo fomenta el crecimiento de bacterias resistentes». Sin embargo, un análisis publicado en julio de 2017 en la revista médica *British Medical Journal* (16), demostró que es necesario estudiar más profundamente a partir de qué momento es seguro dejar el tratamiento antibiótico, ya que el mensaje «profundamente arraigado» de tomarlo al completo para evitar la resistencia no se apoya en evidencias científicas y provoca justo lo contrario, lo que supone que los ciclos deberían ser más cortos.

Además del mal uso en humanos y en animales, algunos grupos de ecologistas han informado acerca de cómo en las fábricas de India y China, donde se genera la mayor cantidad de antibióticos del mundo, se arrojan vertidos o se da un **tratamiento inadecuado a sus residuos**, lo que está provocando la contaminación de los ríos y lagos disparando la proliferación de las superbacterias. No es casual que el gen *NDM-1* (*New Delhi metallo-beta-lactamase*) se identificara por primera vez, como hemos mencionado, en Nueva Delhi.

4. ACTUACIONES PARA Luchar CONTRA EL PROBLEMA

La lucha contra la amenaza de los patógenos resistentes debería recibir el mismo impulso que la ONU dio a la lucha contra el sida en 1996. El Premio Nobel de Química del año 2009 Venkatraman Ramakrishnan, que dilucidó la estructura del ribosoma (la factoría fundamental de las proteínas en las células y una de las principales dianas de los antibióticos), resaltó en una visita a España en el año 2015 que la existencia de bacterias resistentes era un grave problema de Salud Pública que debe tomarse muy en serio por organizaciones y gobiernos. Cuando se generalice su capacidad para desarrollar nuevas mutaciones, no se podrán controlar las infecciones que provoquen con los antibióticos disponibles.

El Centro de Enfermedades Infecciosas de EEUU y su homólogo en Europa estimaron que en 2013 la resistencia a los antibióticos había producido 700.000 muertes en el mundo, 50.000 en Europa y 2.500 en España. La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) también ha estimado que fallecen tres veces más personas por este problema global que por accidentes de tráfico.

En octubre de 2016, los 193 países miembros de la ONU firmaron un acuerdo global para hacer frente a la RAM. Hasta entonces, la Asamblea General de las Naciones Unidas solo había dedicado su atención a tres temas relacionados con la salud: el VIH, las enfermedades no transmisibles (como las cardiovasculares, las respiratorias crónicas y la diabetes), y el ébola. El citado acuerdo adoptó tres compromisos fundamentales que deberían cumplirse en un plazo de dos años: el desarrollo de sistemas regulatorios y de vigilancia para el uso de estos fármacos en humanos y animales, el fomento del desarrollo de nuevos productos, y la mejora de la formación de profesionales sanitarios y de la población en general. En un encuentro celebrado en Septiembre de 2017, dentro del marco de la 72^a Asamblea de Naciones Unidas, se ha advertido que si no se toman medidas contundentes para atajarla, la RAM puede convertirse en 2050 en la primera causa de muerte, y se cobrará previsiblemente más de 10 millones de vidas, superando las muertes por cáncer. Esta advertencia dio pie a un artículo del periódico “El País” publicado el 25 de Septiembre de 2017 titulado: La “epidemia” que matará a más gente que el cáncer (si no lo remediamos”).

5. ESTANCAMIENTO EN EL DESARROLLO DE NUEVOS ANTIBIÓTICOS

Las consecuencias de la RAM se agravan por el estancamiento que se ha producido en el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. Éste se debe a múltiples factores. Por una parte, **los antibióticos sintéticos no han sido capaces de sustituir a los naturales**, que constituyen la fuente de la mayoría de los utilizados en terapéutica. Por otra parte, los antibióticos naturales se han aislado por cribado de cultivos que contienen diferentes especies de hongos y bacterias, pero **solo un pequeño porcentaje han**

podido cultivarse en los laboratorios.

Además, la innovación en este campo ha sido escasa en las últimas décadas porque **las empresas farmacéuticas no consideran la búsqueda de nuevos antibióticos una inversión muy atractiva** si se compara con la búsqueda de medicamentos para las enfermedades crónicas, en las que un paciente requiere la administración de un medicamento de por vida mientras que una infección se resuelve con un ciclo del antibiótico adecuado. Existen además otras razones: 1) se sabe que antes o después empezarán a aparecer mutaciones en las bacterias sensibles que las harán resistentes al tratamiento, por lo que se permanencia en el mercado es incierta; 2) que el desarrollo de antibióticos para las infecciones por bacterias Gram-negativas es particularmente difícil debido a la baja permeabilidad de su pared celular, a la variedad de bombas de eflujo de que disponen, y a una serie de enzimas capaces de inactivarlos; 3) que la inscripción de un paciente en los ensayos clínicos de nuevos candidatos para vencer las infecciones resistentes puede complicarse por la incidencia de infecciones esporádicas y la probabilidad de que dicho paciente esté expuesto a otros antibióticos en el hospital; 4) que el número de dianas reconocidas por los antibióticos disponibles es muy bajo. Esta última circunstancia subsiste a pesar de que se ha secuenciado el genoma de muchas bacterias y se han utilizado las herramientas bioinformáticas para proponer dianas específicas de bacterias patógenas de acuerdo con los estudios *in silico* (17).

El ritmo al que se han introducido antibióticos nuevos ha disminuido considerablemente desde 1987, tampoco se ha descubierto ninguna clase nueva de antibióticos para el tratamiento de infecciones sistémicas, y la mayoría de los aprobados no tienen nuevos mecanismos de acción o son combinaciones de antibióticos ya conocidos. Entre 1983 y 1987, la FDA aprobó 16 antimicrobianos, mientras que entre 2008 y 2012 se aprobaron solo 2 y desde finales de 2012 un total de 6. **Dalbavancin** (comercializado como Dalvance[®] o Xydalba[®]) es un lipoglicopéptido semejante a la vancomicina pero con una estructura más compleja que interrumpe la síntesis de la pared celular en bacterias

Gram-positivas susceptibles, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA). Está indicado en el tratamiento de infecciones de piel agudas en adultos. **Oritavancin** (Orbactive[®]) es otro glicopéptido derivado de vancomicina descubierto y desarrollado en un principio por Eli Lilly, cuyo mecanismo de acción es semejante a dalbavancin. **Tedizolida** (Sivextro[®]) es un derivado de oxazolidinona semejante a linezolida que inhibe la síntesis de proteínas y es útil para infecciones de la piel y de los tejidos blandos. Entre 2014 y 2015 resurgió el uso de cefalosporinas asociadas a un inhibidor de β -lactamasas, aprobándose una nueva cefalosporina, **ceftobiprol** (Zevtera[®], Mabelio[®], Figura 10), que es semejante a ceftarolina. Aunque estas dos cefalosporinas se hidrolizan por la mayoría de β -lactamasas, ceftobiprol tiene algunas ventajas y se aconseja en el tratamiento de neumonías cuando se sospecha que están producidas por MRSA. Como todas las cefalosporinas y penicilinas, ceftobiprol ejerce su actividad bactericida mediante la unión a las proteínas de unión a penicilinas (PBPs). En las bacterias Gram-positivas, incluyendo *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, el ceftobiprol se une a la PBP2a, a la PBP2b en el *Streptococcus pneumoniae*, a la PBP2x en *S. pneumoniae* resistente a penicilina, y a la PBP5 en *Enterococcus faecalis*. La combinación ceftazidima-avibactam (Avycaz[®]) se aprobó por la FDA en 2015 para el tratamiento de infecciones abdominales complicadas (en combinación con metronidazol) y en infecciones del tracto urinario. Ceftazidima se había aprobado en 1985, pero es vulnerable a una gran variedad de β -lactamasas. Avibactam es un inhibidor de estas enzimas, y su asociación permite una extensión del uso del antibiótico, aunque algunas metalo- β -lactamasas como NDM, VIM, o IMP no se inhiben por avibactam. La estructura de **ceftolozano** se basa en el esqueleto de ceftazidima, y pretende aumentar su actividad frente a *Pseudomonas* (Figura 10). No es estable frente a β -lactamasas de las clases A, B o D (en su mayoría carbapenemasas), y la combinación con tazobactam (Zerbaxa[®]) aumenta su eficacia frente a enterobacteriaceas resistentes.

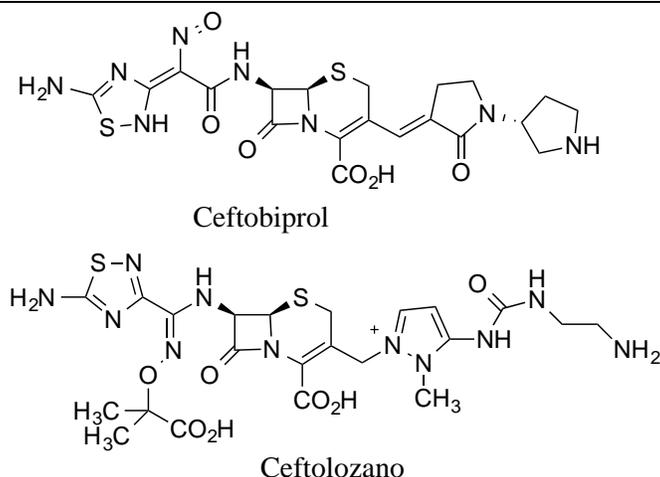


Figura 10: Estructuras de ceftobiprol y ceftolozano.

En la búsqueda de nuevos antibióticos de origen natural se ha recurrido al mar, ya que es uno de los lugares menos explorados de la naturaleza. De esta forma, se encontró en el año 2013 el macrólido **antracimicina**, que es producido por una actinobacteria marina (Figura 11). Es activo frente a *Bacillus Anthracis* (productor del ántrax) y frente a *S. aureus* MRSA, aunque todavía no se ha aprobado (18).

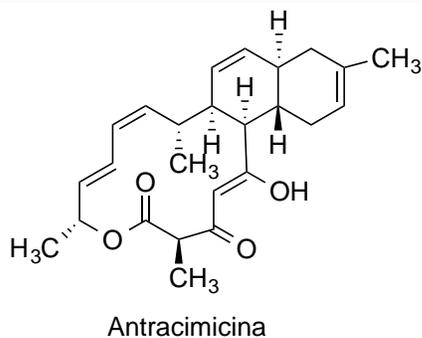


Figura 11. Estructura de antracimicina.

El desarrollo de nuevos antibióticos a partir de fuentes naturales está limitado, al menos en principio, porque los organismos que los producen han de ser cultivados en el laboratorio, y esto no siempre es posible. Muchos

microorganismos que viven en el suelo, el principal caladero de los antibióticos naturales conocidos hasta ahora, no han podido cultivarse. Tomaremos como ejemplo los esfuerzos realizados hasta el momento para el desarrollo del antibiótico **teixobactina**, un depsipéptido que se aisló en 2015 de una muestra de suelo y pudo cultivarse utilizando una nueva técnica (Figura 12). Se mostró muy potente frente a varios microorganismos patógenos Gram-positivos, incluidas sus cepas resistentes como *S. aureus* MRSA, y también fue activo frente a *Mycobacterium tuberculosis*. Su estructura incluye cuatro D-aminoácidos, *N*-metilfenilalanina, y un aminoácido raro denominado enduracididina. El mecanismo de acción de teixobactina es parecido al de vancomicina, pero los componentes de la pared celular sobre los que actúa no pueden modificarse sin causar un daño letal. Además, este compuesto se une a varios derivados del lípido bacteriano bactoprenol inhibiendo las vías de síntesis de péptidoglicano y de ácido teicoico, por lo que su actuación en dos vías metabólicas paralelas podría justificar la dificultad para generar resistencia ya que sería necesario rescatar las dos vías a la vez. Sin embargo, la teixobactina tiene el inconveniente de ser inactiva por vía oral y de carecer de actividad frente a bacterias Gram-negativas (19).

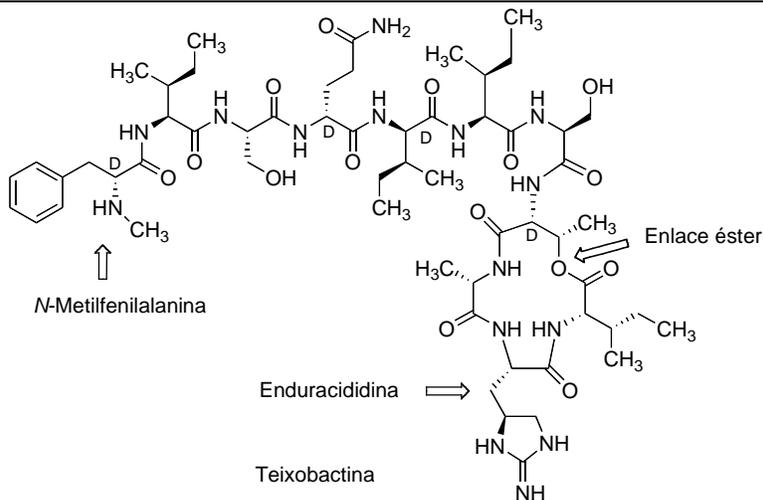


Figura 12. Estructura de teixobactina.

Muchos creyeron que por ser seguro y efectivo, la teixobactina sería el primer antibiótico natural que se aprobaría en los últimos años, pero para ello era obvio que había que producirlo a escala comercial. Dentro de la estructura compleja que posee, la síntesis del aminoácido L-enduracididina convenientemente protegido y su incorporación al macrociclo ha demostrado ser especialmente laboriosa y tiene lugar con rendimientos bajos, siendo el cuello de botella para la preparación de sus análogos. Seis de éstos, en los que este aminoácido se ha reemplazado por distintos Fmoc-aminoácidos, han mostrado retener la actividad frente a cepas AMR de *S. aureus* y *Enterococcus faecalis*, siendo especialmente

interesantes particularmente los que poseen un resto de guanidina (20).

Por otra parte, utilizando 7 análogos en los que se ha variado la configuración D/L, se ha establecido por RMN y cálculos de dinámica molecular el papel en la actividad biológica de teixobactina de cada residuo de D-aminoácido (21). Las moléculas simplificadas de teixobactina que retienen la actividad antibiótica contienen aminoácidos cargados positivamente (catiónicos) en una cadena lateral de la estructura, una circunstancia estructural que es fundamental para que se produzca el enlace con las dianas terapéuticas. En el compuesto natural, este aminoácido es la enduracididina que, como hemos dicho, es difícil de

sintetizar. Como vemos, el trabajo ha sido intenso, pero los ensayos clínicos, hasta lo que nosotros sabemos, no han comenzado todavía.

6. OTROS ENFOQUES

Aunque es muy necesario contar con antibióticos nuevos, también hay otros enfoques que tienen un papel importante. Las **mejoras en la salud pública** pueden prevenir las infecciones bacterianas y obviar la necesidad de un cierto uso de antibióticos. También lo hacen algunas estrategias de **vacunación**, como las dirigidas a *S. pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, que han reducido la prevalencia de la neumonía, meningitis, y sepsis (22). Inmunizar al 100% de los niños del mundo sería más efectivo que cualquier otra cosa, ya que con las vacunas se evitaría un gran número de enfermedades bacterianas que son frecuentes y los antibióticos serían innecesarios. Se ha estimado que la cobertura de vacunación contra la neumonía pneumocócica podría evitar 11,4 millones de días de antibióticos por año en los niños menores de 5 años en todo el mundo. También en animales las vacunas tienen un papel crucial.

Sería fundamental en cuanto aparece la infección tener lo más rápidamente posible a un precio asequible un **diagnóstico sensible y específico**, así como disponer de información sobre la presencia y tipos de genes de resistencia. Las técnicas tradicionales de cultivo requieren entre 48 y 72 horas para aislar e identificar el agente patógeno y a qué antibióticos es sensible, pero las **técnicas de diagnóstico molecular** basadas en la detección y amplificación del material genético de la bacteria, han aumentado considerablemente la rapidez del diagnóstico, permitiendo tener un resultado en unas cuantas horas en vez de dos o tres días. La identificación de las bacterias de acuerdo a la masa de sus proteínas permite además distinguir entre diferentes linajes de una misma especie. Sin embargo, estas técnicas no tienen un precio asequible para generalizarse y requieren personal y equipo especializados.

La falta de nuevas dianas para tratar infecciones difíciles y combatir a las bacterias resistentes, ha despertado el interés por actuar sobre ciertas características bacterianas. Una de estas actuaciones trata de **modular su metabolismo**. Ya hemos comentado que para sobrevivir a la presión de los antimicrobianos las bacterias resistentes tienen alterado su metabolismo, induciendo la biosíntesis de enzimas que degradan a estos fármacos o sobreexpresando bombas de transporte para su eflujo. Por ello, estos agentes suelen alcanzar en las bacterias resistentes concentraciones inferiores a las que alcanzan en las bacterias sensibles. Algunas evidencias sugieren que el aumento de la fuerza motriz protónica (PMF) a través de la membrana celular estimula la absorción de antibióticos aminoglicósidos. Persuadidos de que el estado metabólico de una bacteria influye mucho en su susceptibilidad a los antibióticos, Peng y colaboradores han llevado a cabo un estudio con *Edwardsiella tarda* (*E. tarda*), un patógeno oportunista que puede ser devastador para el hombre, los peces y otras especies, en el que demostraron que las cepas

que se han hecho resistentes por la presión continuada del antibiótico aminoglicósido kanamicina tienen alteradas algunas rutas metabólicas y son muy deficientes en glucosa y alanina (23). Investigando si la adición *in vitro* de los metabolitos en los que las bacterias resistentes eran deficientes las haría más sensibles al antibiótico, demostraron que la adición de alanina y/o glucosa restaura la susceptibilidad a los antibióticos por un aumento en los niveles intracelulares de kanamicina, un hecho que está acoplado al mayor flujo de protones originado por una mayor expresión y actividad de las enzimas implicadas en el ciclo de los ácidos tricarbónicos (ciclo de Krebs) y por una mayor producción de NADH (Figura 13).

Ensayos *in vivo*, con ratones utilizados como modelo de infecciones del tracto urinario, demostraron que la adición de alanina y/o glucosa también aumenta los niveles de kanamicina e induce la muerte de cepas de *E. tarda* resistentes a β -lactamas, quinolonas y tetraciclinas por aumento de los niveles del antibiótico aminoglicósido. Este trabajo demuestra que la adición de metabolitos externos puede estimular el transporte de antibióticos extracelulares a través de la pared y de la membrana celulares, aumentando las concentraciones intracelulares de estos fármacos.

La necesidad de nuevos agentes antimicrobianos ha vuelto a despertar también el interés en los **bacteriófagos**, hasta ahora estudiados y utilizados principalmente en la antigua URSS y Europa del Este. Estos virus, que infectan y destruyen específicamente a bacterias, son eficientes en el laboratorio para combatir películas bacterianas (biofilms), y también se pueden usar en combinación con otros antibióticos. Sin embargo, su eficacia para tratar infecciones humanas todavía no se ha demostrado con ensayos clínicos controlados. Algunos **péptidos naturales**, como las **endolisinas** (enzimas derivadas de los bacteriófagos que degradan la pared celular de las bacterias), han tenido éxito en pruebas clínicas iniciales para tratar infecciones cutáneas.

Otra táctica prometedora para la que aún no hay moléculas en fase de estudios clínicos es **disminuir la virulencia de las bacterias** con moléculas que interfieran en la secreción de toxinas o en la infección del huésped. Los **pilicidas**, por ejemplo, interfieren en la formación de los pili, estructuras en forma de pelo más cortas y finas que los flagelos que se encuentran en la superficie de muchas bacterias y tienen distintas funciones (una de estas estructuras está implicada en la adhesión de *E. coli* a la célula huésped). Estas **moléculas antivirulencia** no ejercen una presión selectiva tan grande como los antibióticos, y la aparición de resistencias podría ralentizarse.

Finalmente, otra táctica totalmente distinta consiste en reemplazar unas bacterias por otras. Como ya hemos comentado, se han logrado resultados muy prometedores con simples **transplantes de microbiota fecal** de un individuo sano a un paciente con infecciones recurrentes por *Clostridium difficile*, una bacteria que causa diarreas graves.

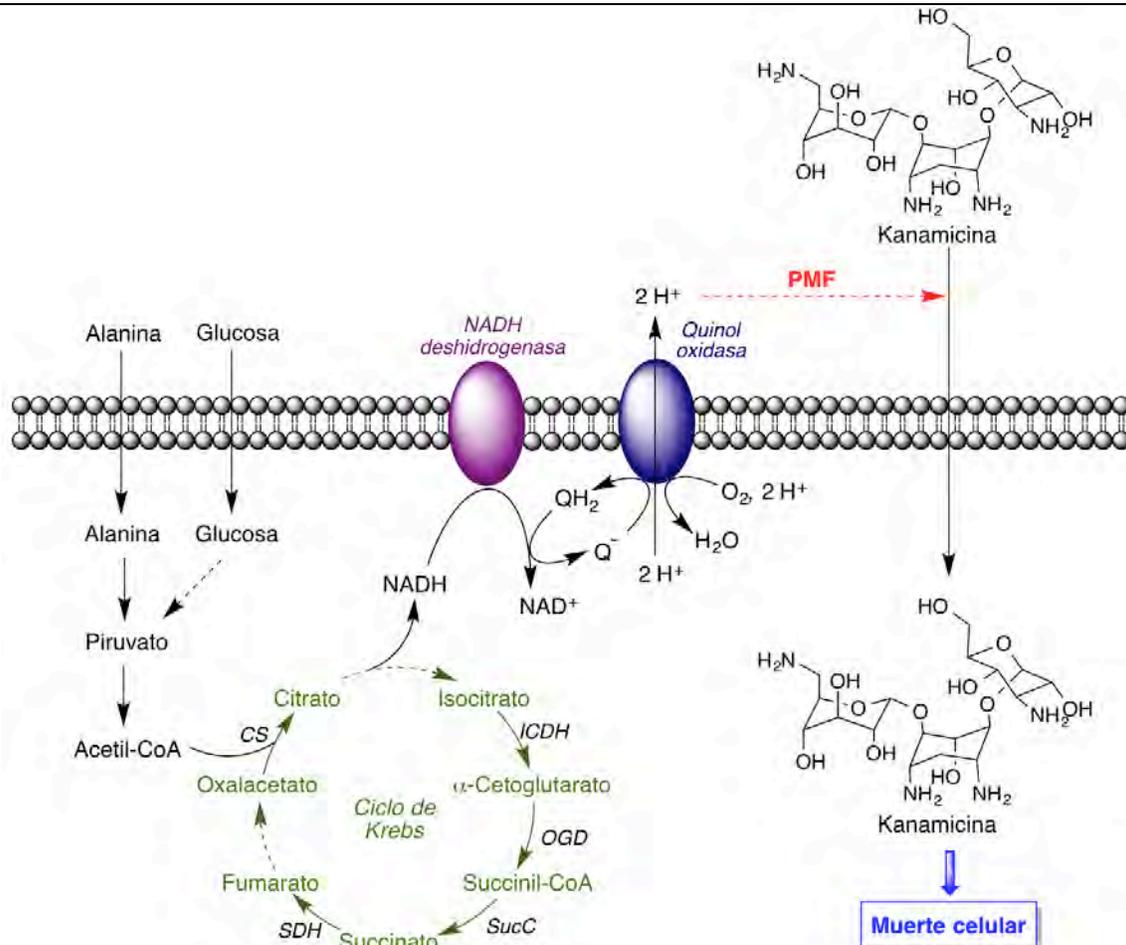


Figura 13. Aumento de la sensibilidad a kanamicina por modulación del metabolismo de la bacteria resistente *Edwardsiella tarda*.

7. CONCLUSIÓN

Actualmente, los datos no apoyan una perspectiva optimista. Si no se cambia el escenario, el uso de los antibióticos seguirá creciendo y se doblará en los próximos 20 años por la intensificación de la ganadería y la acuicultura. A pesar de las distintas aproximaciones y hallazgos, se prevén muy pocos tratamientos nuevos que vengán a solucionarnos el problema, y éste puede convertirse en la mayor epidemia de los próximos años. En palabras del director de la OMS: “El reloj corre en contra de la salud global cuando hablamos de resistencia a los medicamentos. Las medidas tienen que tomarse ya”.

8. REFERENCIAS

1. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 321-31.
2. Ver: Piddock LJ. The crisis of no new antibiotics-what is the way forward? *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 249-53.
3. Touchon M, Hoede C, Tenaillon O, Barbe V, *et al.* Organised Genome Dynamics in the *Escherichia coli* Species Results in Highly Diverse Adaptive Paths. *PLOS Genet* 2009; 5: e1000344.
4. Dantes R, Mu Y, Belflower R, Aragon D, *et al.* National Burden of Invasive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections United States 2011. *JAMA Intern Med* 2013; 173: 1970-8.
5. Adeil OO, Baris E, Jonas OB, Irwin A, *et al.* Drug-Resistant Infections: A Threat to Our Economic Future. The World Bank Documents & Reports 2017/03/01; Report Number 114679.
6. Cercenado E. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011; 29: 59-65.
7. Raven KE, Reuter S, Gouliouris T, Reynolds R, *et al.* Genome-based characterization of hospital-adapted *Enterococcus faecalis* lineages. *Nat Microbiol* 2016; pii: 15033. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.33.
8. Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, *et al.* Antimicrobial Resistance. *JAMA* 2016; 316: 1193-1204.
9. Lebreton F, AL, Saavedra JT, TJ, *et al.* Tracing the Enterococci from Paleozoic Origins to the Hospital. *Cell* 2017; 169: 849-61.
10. Lamberte T, Gerbaud G, Bouvet GG, Vieu JF, Courvalin P. Dissemination of amikacin resistance

- gene *aphA6* in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1244-8.
11. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, *et al.* Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1151-61.
 12. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, *et al.* Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemoter* 1999; 43: 1584-90.
 13. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, *et al.* Characterization of a New Metallo- β -Lactamase Gene, blaNDM-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 5046-54.
 14. McGann P, Snesrud E, Maybank R, Corey B, *et al.* *Escherichia coli* Harboring mcr-1 and blaCTX-M on a Novel Incl Plasmid: First report of mcr-1 in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 4420-1.
 15. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner VR, Paterson DL. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 589-601.
 16. Llewelyn MJ, Fitzpatrick JM, Darwin E, Tonkin-Crine S, *et al.* The antibiotic course has had its day. *BMJ* 2017; 358: j3418.
 17. Payne DJ, Gwynn MN, Holmes DJ, Pompliano DL. Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery. *Nature Rev Drug Discov* 2007; 6: 29-40.
 18. Jang HJ, Nam SJ, Locke JB, Kauffman CA, *et al.* Anthracimycin, a potent anthrax antibiotic from a marine-derived actinomycete. *Angew Chem Int Ed* 2013; 52: 7822-4.
 19. a) Ling LL, Schneider T, Peoples AJ, Spoering AL, *et al.* A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 2015; 517: 455-9. b) Avendaño C. Teixobactin, a new antibiotic that would hardly produce resistance. *An Real Acad Farm* 2015; 81: 4-10.
 20. a) Schumacher CE, Harris PWR, Ding XB, Krause B, *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel teixobactin analogues. *Org Biomol Chem* 2017; 15: 8755-60. b) Parmar A, Iyer A, Lloyd DG, Vincent CS, *et al.* Syntheses of potent teixobactin analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) through the replacement of 1-allo-enduracididine with its isosteres. *Chem Commun (Camb)* 2017 ; 53: 7788-91.
 21. Parmar A, Prior SH, Iyer A, Vincent ChS, *et al.* Defining the molecular structure of teixobactin analogues and understanding their role in antibacterial activities. *Chem Commun* 2017; 53: 2016-9.
 22. Ginsburg AS, Klugman KP. Vaccination to reduce antimicrobial resistance. *Lancet* 217; 5: e1176-7.
 23. a) Bhargava P, Collins J. Boosting Bacterial Metabolism to Combat Antibiotic Resistance. *Cell Metabolism* 2015; 21: 154-5. b) Peng B, Su Y, Li H, Han Y, *et al.* Exogenous Alanine and/or Glucose plus Kanamycin Kills Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Metabolism* 2015; 21, 249-61.



Clinical applications of adipose-derived stem cells and aspects related with good manufacturing practices

Title in Spanish: *Aplicaciones clínicas de células madres derivadas de tejido adiposo y aspectos relacionados con buenas prácticas de manufactura*

Katherine Fabiola Rodríguez Cid¹, Patricia Soledad Carreño González^{1,2}, Fernando Antonio Albornoz Márquez³, Soledad de los Ángeles Herrera Jofré³, Caroline Ruth Weinstein-Oppenheimer*^{1,2}

¹Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. ²Centro de Investigación Farmacopea Chilena, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile. ³Inbiocriotec S.A., Viña del Mar, Chile.

ABSTRACT: Currently, cell therapy through the clinical use of stem cells (SC) has acquired relevance as a treatment for diseases involving tissue or organ repair, in which the organism is not able to properly respond. An area of recent interest is focused on the use of adipose-derived stem cells (ASCs) that exhibit advantages in comparison to the bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSC-BM), which have been widely investigated. Multiple studies focused on the clinical applications of this type of cells have been promising and satisfying, which allowed their recent approval by the European Medicines Agency (EMA) for the treatment of complex fistulas in Crohn's disease. In consequence, as for any human use medicine, they require a system of standards that regulate their production, as the good manufacturing practices (GMP), whose aim is to assure the efficacy and safety for the patients. This review addresses relevant aspects related to the advantages, clinical applications and standards that regulate ASCs production.

RESUMEN: En la actualidad la terapia celular, a través de las aplicaciones clínicas de las células madre (stem cell, SC), ha adquirido importancia como tratamiento para enfermedades que involucran la reparación de tejidos u órganos, frente a las cuales el organismo no es capaz de responder adecuadamente. Un campo de reciente interés se centra en el uso de células madre derivadas de adipocitos (adipose-derived stem cells, ASCs), que presentan ventajas en comparación a las células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (mesenchymal stem cells derived from bone marrow, MSC-BM), las que han sido ampliamente investigadas. Los múltiples estudios enfocados en las aplicaciones clínicas de este tipo celular han sido muy prometedores y satisfactorios, lo que ha permitido que recientemente hayan sido aprobadas por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para el tratamiento de fistulas complejas en enfermedad de Crohn. Como consecuencia de lo anterior, al igual que cualquier medicamento de uso humano, requieren de un sistema de normas que regule su producción, como son las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), cuyo objetivo es asegurar la eficacia y seguridad para los pacientes. En esta revisión se abordan aspectos relevantes en relación a las ventajas, aplicaciones clínicas y normas que rigen la producción de ASCs.

* **Corresponding Author:** caroline.weinstein@uv.cl

Received: January 16, 2018 **Accepted:** January 20, 2018

An Real Acad Farm Vol. 83, N° 4 (2017), pp. 392-402

Language of Manuscript: Spanish

1. CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE

Las SC se encuentran en todo tipo de organismos pluricelulares y se caracterizan por tener la capacidad de dividirse dando origen a una célula con sus mismas características, lo que se conoce como autorrenovación y a una célula con la facultad de diferenciarse en otros tipos celulares (1). Estas pueden clasificarse según su estado evolutivo, en embrionarias o adultas (2) y de acuerdo a su capacidad de diferenciación pueden ser totipotentes, como es el caso del cigoto que puede formar a un organismo completo, incluyendo tanto las tres capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo) como los tejidos

extraembrionarios (3), luego se encuentran las células madres pluripotentes que pueden dar origen a los tres linajes embrionarios antes mencionados dentro de las que se localizan las células madres embrionarias (3). Por otra parte, están las multipotentes que generan solo células de su mismo linaje embrionario, como las células madres mesenquimales (MSCs) y las hematopoyéticas, y por último, están las células madres unipotentes que pueden diferenciarse solo en un tipo celular, como las células madres musculares (2,3). Sin embargo, cabe mencionar otro tipo de células madres que son conocidas como células madres pluripotentes inducidas (iPS) (3) que

corresponden a células somáticas reprogramadas mediante la introducción de factores de transcripción como Oct4 y Sox2 en vectores retrovirales, para convertirlas en células similares a las embrionarias, con las que comparten la expresión de algunos marcadores (SSEA-3, SSEA-4, antígeno relacionado con tumores TRA-1-60, entre otros) y la capacidad pluripotente de diferenciación (4). Las primeras iPS de origen murino se registraron en 2006 (5) y las de fibroblastos humanos en 2007 (4).

En la terapia celular se utilizan específicamente las células madre adultas, éstas se encuentran en diferentes tejidos en todo el organismo y de esto dependería su velocidad de división (1). Mientras que la epidermis, el intestino y el sistema hematopoyético tienen una rotación diaria, como parte normal de su proceso de renovación, hay otros tejidos como el músculo esquelético y el cerebro que tienen una rotación mucho más lenta y que se ve activada en situaciones específicas, como una lesión muscular en el caso de las primeras (1,6). La localización específica de las células madre se da en regiones anatómicas que se conocen como nichos, cada uno de estos tiene características únicas que influyen en el control del comportamiento y de la actividad de división y diferenciación de las células madre. Los mecanismos mediante los cuales se regulan estos procesos incluyen estímulos de diferenciación y estímulos apoptóticos, los que están siendo recientemente investigados (1,7).

2. CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Las células que más se han utilizado en ensayos clínicos son las MSCs. La International Society for Cellular Therapy (ISCT) ha establecido los criterios mínimos para definir las, con el fin de obtener una caracterización uniforme de éstas y, a su vez, facilitar el intercambio y comparación de la información referente a este tema (8). En primer lugar, las MSC deben tener la capacidad de adherirse al plástico al encontrarse en condiciones estándar de cultivo. Por otra parte, mediante citometría de flujo, se debe comprobar que más del 95% de la población de MSC posee los antígenos de superficie CD105, CD73 y CD90, y que el 98% de la población carece de CD45 (marcador de leucocitos), CD34 (marcador de progenitores hematopoyéticos) CD14 y CD11b (marcadores expresados en monocitos y macrófagos), CD79a y CD19 (marcadores de células B) y además no deben presentar HLA-DR sin previa estimulación, por ejemplo con IFN- γ (8). Por último, la característica que más identifica a las MSC es su propiedad biológica de diferenciarse a osteoblastos, adipocitos y condroblastos, usando condiciones específicas de cultivo *in vitro* para la diferenciación de cada linaje celular, y que posteriormente se identifican mediante tinciones específicas. Para la diferenciación a osteoblastos se puede utilizar Alizarin red, mientras que la diferenciación a adipocitos puede ser demostrada mediante tinción con Oil Red O y, a su vez, con Azul Alcian para los condroblastos (8,9).

Las MSCs pueden ser obtenidas desde variadas fuentes como tejido adiposo, médula ósea, tejido de cordón

umbilical, pulpa dental, entre otros (2,7,10). En 2001, se propuso al tejido adiposo como una fuente de células con un rendimiento adecuado y que implica un procedimiento de extracción con mínimas molestias y riesgos para el paciente. Para esto, se obtuvo tejido adiposo humano mediante liposucción, el que fue procesado mediante métodos estandarizados, para lo cual se lavó el lipoaspirado con buffer fosfato, luego la matriz extracelular fue digerida con colagenasa tipo I, al 0,075 % durante 30 min a 37°C. La actividad enzimática fue neutralizada con Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), que contenía 10% de suero bovino, y posteriormente se centrifugó obteniendo el pellet de fracción vascular estromal (SVF), que corresponde a una población celular heterogénea que incluye eritrocitos, células endoteliales, pericitos, fibroblastos y preadipocitos (9,11). A su vez, este pellet fue resuspendido en NH₄Cl (160 mM) e incubado a temperatura ambiente durante 10 min, para lisar los eritrocitos remanentes y nuevamente el pellet fue separado por centrifugación, se hizo pasar a través de un filtro de 100 μ m para eliminar residuos celulares y se incubó durante la noche a 37°C/5 % CO₂ en medio de cultivo (DMEM, suero bovino fetal 10 % y solución antibiótica/antimicótica al 1 %). Finalmente, las placas fueron lavadas extensamente con buffer fosfato para eliminar los eritrocitos residuales y se obtuvo una población celular que se caracterizó como células similares a fibroblastos. Para clasificar estas células como MSCs se confirmó su capacidad de diferenciación a linajes adipogénicos, osteogénicos, condrogénicos y miogénicos, utilizando medios de cultivo con factores inductores específicos para inducir la diferenciación a cada linaje celular y además, los resultados fueron comparados con un control positivo correspondiente a MSC-BM (11). Desde entonces la extracción, el aislamiento e identificación de las ASCs ha seguido una metodología muy similar (12,13).

3. COMPARACIÓN DE ASCS FRENTE A MSC-BM

En primer lugar, estos tipos de células madres presentan algunas similitudes a destacar. De acuerdo a lo observado por Zhu, ambas tienen un perfil semejante en cuanto a sus características morfológicas y expresión de marcadores de superficie (14). Del mismo modo, no se ha encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la senescencia de ASCs y MSC-BM, basándose en el ensayo de tinción que detecta la actividad de β -galactosidasa en células senescentes a pH 6,0 (15,16). Por otra parte, se ha establecido que ambas son capaces de diferenciarse a tejidos mesodérmicos y no mesodérmicos (como tejido miogénico, endotelial, hepático, pancreático y neurogénico) (13). Además, con respecto a su diferenciación, algunos investigadores han reportado que presentan un potencial equivalente de diferenciación a adipocitos, cartílagos, huesos y músculo esquelético (16,17). Aunque este tema es controversial, ya que otros autores indican que las ASCs tienen mayor potencial de diferenciación miogénica, y menor potencial de diferenciación condrogénica y osteogénica que las MSC-BM (18). De ser así, estas diferencias debieran ser

aprovechadas para obtener mejores resultados en sus aplicaciones regenerativas.

Sin embargo, pese a sus similitudes, las ASCs presentan ventajas comparativas frente a las MSC-BM. La primera que se distingue se relaciona con la recolección de MSC-BM, que se realiza mediante una aspiración de médula ósea (19) que a su vez implica un procedimiento de mayor costo (20), y también más doloroso e invasivo para los donantes en comparación con la liposucción necesaria para obtener tejido adiposo (9). En segundo lugar, la ventaja más importante de las ASCs es que son más abundantes. Estudios recientes describen que 1 g de tejido adiposo puede contener entre $0,5 \times 10^6$ y 2×10^6 células (20,21), dependiendo de las características del donante como edad, género y tipo de tejido adiposo (subcutáneo o visceral) (22). De dichas células, un 10% correspondería a ASCs (20,21), en cambio, los aspirados de médula ósea presentan un promedio de 6×10^6 células nucleadas, de las cuáles solo entre un 0,001 a 0,01% corresponden a células madres (23), por lo que para alcanzar dosis terapéuticas (1-5 millones de células/Kg de peso corporal) (24) es necesaria la amplificación *ex vivo* (19). Por otra parte, se ha reportado que la tasa de proliferación es más rápida para las ASCs (28 h) que para las MSC-BM (39 h) (14), lo que permite una disminución en el tiempo de cultivo, pudiendo significar un menor riesgo de anomalías cromosómicas (25).

En síntesis, aun cuando ambos tipos celulares presenten características similares, se ha demostrado que las MSC-BM tienen algunas limitaciones frente a las ASCs (17), por lo que estas últimas son el foco de esta revisión.

4. APLICACIONES CLÍNICAS DE ASCS

Las ventajas que presentan las ASCs, han tenido como consecuencia que se generen múltiples aplicaciones clínicas en la medicina regenerativa. Estas han sido informadas recientemente, por ejemplo en el tratamiento del infarto de miocardio, esclerosis múltiple, osteoartritis y enfermedad de Crohn (26). Al inicio, los estudios existentes sugerían que las ASCs actuaban exclusivamente mediante la diferenciación a un linaje celular particular para reemplazar las células dañadas, sin embargo, la evidencia no era consistente para apoyar esta hipótesis (27). En la actualidad se describen varios mecanismos adicionales a través de los cuales las ASCs promueven la regeneración celular, como la acción que ejercerían en los nichos del hospedero estimulando el reclutamiento de células madres endógenas al área dañada (25) y principalmente, por medio de la secreción de citoquinas y factores de crecimiento, que incluyen al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor estimulador de colonia granulocitos/macrófagos, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor 2 de crecimiento de fibroblastos (FGF-2), lo que explica sus propiedades angiogénicas y de vascularización tisular (27,28).

En el infarto de miocardio (IM) se genera una pérdida de cardiomiocitos debida a la isquemia, lo que resulta en

una limitación de la función del miocardio. Actualmente el trasplante de células madres se estudia como una opción de tratamiento frente a las cirugías cardíacas, en modelos animales de IM, ya que se ha demostrado que contribuyen a la supervivencia del tejido cardíaco, promoviendo la angiogénesis y la posterior recuperación del flujo sanguíneo, mediante la producción de VEGF y factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) (29,30).

En el caso de la osteoartritis, los tratamientos actuales son sintomáticos, centrándose en reducir el dolor y controlar la inflamación, sin enfocarse en la regeneración del tejido articular. Por lo anterior, se han realizado estudios para evaluar la utilidad del tratamiento con ASCs en pacientes ancianos con osteoartritis de rodilla, obteniéndose buenos resultados clínicos, que demuestran eficacia en la cicatrización del cartílago, reducción del dolor y una mejora de la función en un periodo de 2 años de seguimiento (31,32).

Por su parte, la esclerosis múltiple es una patología autoinmune progresiva que se caracteriza por desmielinización neuronal, que afecta al sistema nervioso central, en la que también se presentan zonas de inflamación debido a la infiltración de células inmunitarias y anomalías vasculares (33). Al igual que para el caso anterior, el tratamiento farmacológico convencional no detiene eficazmente la degeneración del tejido afectado, por lo que se ha propuesto el tratamiento con MSCs. En este caso, las ASCs serían una mejor fuente de células debido a que atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE) (34) y promueven el proceso de remielinización, tanto directamente por la diferenciación a oligodendrocitos, como indirectamente gracias a la secreción de factores antiinflamatorios y neurotróficos, los que no tienen la misma capacidad de atravesar la BHE cuando se administran periféricamente (34).

Más significativo aún son los resultados que se han obtenido para el tratamiento de las fistulas en la Enfermedad de Crohn. Esta es una patología inflamatoria, que afecta principalmente el tracto gastrointestinal y puede presentar dolor abdominal, fiebre y obstrucción intestinal o diarrea (35). La complicación más frecuente es la formación de fístulas perianales, que poseen una estructura similar a la de un tubo, y conectan el intestino con la superficie corporal. Su origen se debe a un defecto epitelial causado por la inflamación en curso, la acción de mediadores como el TNF y la interleucina-13, y la presencia de microorganismos patógenos (36). El tratamiento de los pacientes con estas afecciones se centra en el uso combinado de un agente anti-TNF, (como el anticuerpo monoclonal infliximab), antibióticos e inmunosupresores (azatioprina o mercaptopurina), y en las situaciones más complicadas se recurre a intervenciones quirúrgicas. Sin embargo, el manejo eficaz de las fístulas es extremadamente difícil de conseguir (35), por lo que se ha recurrido al uso de las ASCs, las cuales han demostrado una eficacia similar a los tratamientos farmacológicos y una menor incidencia de efectos adversos, tales como las infecciones ocurridas como consecuencia del uso

prolongado de infliximab o la incontinencia fecal que puede resultar de las intervenciones quirúrgicas (37).

En 2005, fue publicado el primer estudio clínico de fase I referido al trasplante de ASCs para el tratamiento de las fistulas de la Enfermedad de Crohn (38). Este se realizó a un total de 5 pacientes que cumplían con los criterios establecidos: ser mayor de 18 años, haber sido diagnosticado 5 años antes del inicio del ensayo, poseer una o más fistulas refractarias al tratamiento farmacológico y a cirugía, y por último firmar el formulario de consentimiento informado. A su vez, se excluyeron a los pacientes que presentaran extrema delgadez, alergia a anestésicos locales, discapacidad mental y que padecieran de cáncer o SIDA. De manera excepcional uno de los pacientes fue excluido del estudio debido a una contaminación bacteriana de las células cultivadas. Para el trasplante se usaron células madres autólogas obtenidas por lipoaspiración del tejido adiposo de cada paciente. Estas células se cultivaron por 7 a 10 días, siendo algunas criopreservadas. Las células fueron caracterizadas mediante la identificación de los marcadores de superficie CD90, CD117 o c-Kit (un marcador de proliferación celular) y ausencia de los marcadores de células endoteliales CD34 y Factor de von Willebrand. Posteriormente, nueve fistulas fueron inoculadas con ASCs, de las cuales ocho fueron consideradas dentro del estudio y seguidas por un mínimo de ocho semanas. Como resultado se observó que en un 75% (6) de las fistulas se produjo la epitelización de la abertura externa al cabo de las ocho semanas, las que fueron consideradas como curadas, mientras que las otras dos presentaban un cierre incompleto de la abertura externa, pero con una disminución en el flujo de salida. Además, ninguno de los pacientes presentó reacciones adversas (38).

Si bien el estudio anterior no fue concluyente con respecto a la eficacia, debido al limitado número de pacientes y a la falta de control inherente a un estudio de fase I, fue útil para demostrar la seguridad del tratamiento y sirvió como base para los avances que actualmente existen. Desde esa fecha se han realizado varios estudios clínicos (26,39,40), siendo el último un estudio de fase III, aleatorizado, doble ciego y controlado frente a un placebo (41), que fue realizado en hospitales de 7 países europeos e Israel, desde julio de 2012 a julio de 2015, con un total de 212 pacientes seleccionados mediante criterios que incluían la edad del paciente (>18 años), la gravedad de la enfermedad debiendo ser inactiva o ligeramente activa de acuerdo al índice de actividad de la Enfermedad de Crohn (CDAI<220), la presencia de distintos tipos de fistulas perianales las que debían estar drenando por lo menos 6 semanas antes del inicio del ensayo y se excluyeron los pacientes que presentaban estomas divergentes o abscesos con longitud mayor a 2 cm que no drenaban adecuadamente. Además, la elección se basó en la refractariedad de los pacientes, ya que debían ser resistentes al tratamiento, ya sea con antibióticos como ciprofloxacino o metronidazol, inmunomoduladores como

azatioprina, 6-mercaptopurina o metotrexato, o tratamiento anti-TNF. Posteriormente, los pacientes recibieron una sola inyección de 120 millones de células (Cx601), las que podían ser distribuidas en hasta tres vías de la fistula, es decir, 40 millones de células por vía. A la semana 24, la tasa de remisión en pacientes tratados con Cx601 (49,5%) tuvo diferencias estadísticamente significativas en comparación con los pacientes tratados con placebo (34,4%). Por otra parte, el estudio confirmó un perfil de seguridad y tolerabilidad favorable. Estos resultados se mantuvieron y mejoraron a la semana 52 de seguimiento (41). Demostrando la eficacia y seguridad de Cx601 en el tratamiento a largo plazo de la cicatrización de las fistulas perianales en pacientes refractarios (41). Estos antecedentes finalmente dieron como resultado que Cx601 fuera designado como un medicamento huérfano por la EMA (42).

Adicionalmente, otros estudios ya habían determinado que el subtipo de MSCs óptimo para el tratamiento de fistulas eran las ASCs, en comparación con las MSC-BM porque si bien no presentaban diferencias estadísticamente significativas en la tasa de curación de las fistulas, la tasa de recurrencia era menor con ASCs (37,43,44). Así mismo se había establecido que la dosis recomendable era $2 - 4 \times 10^7$ células, debido a que ese rango presentaba un mejor índice de curación en comparación, tanto con dosis menores como mayores (37).

Según la información disponible en ClinicalTrials.gov (45) actualmente existe una amplia cantidad de ensayos clínicos completados, que demuestran el interés en el uso de las ASCs (Tabla 1). Un número importante corresponde a estudios de fase I y II que abarcan pequeños grupos de pacientes y están orientados a identificar efectos adversos, para dar paso a las siguientes fases. Además, de acuerdo a la información ahí disponible, es posible observar que las principales áreas de aplicación de las ASCs, son las relacionadas a isquemia y patologías autoinmunes, dentro de las que destacan las fistulas de la enfermedad de Crohn y la osteoartritis (Tabla 2).

Tabla 1. Estudios clínicos completados que utilizaron ASCs, según su fase de estudio.

Fase de estudio	Número
I	15
I/II	24
II	11
II/III	1
III	2

Fuente: elaboración propia a partir de búsqueda en www.clinicaltrials.gov.

Tabla 2. Ensayos clínicos completados que utilizaron ASCs como tratamiento.

Indicación	Número
Isquemia	
Infarto de miocardio	7
En extremidades/Enfermedad de Burger/Angiogénesis	5
Patologías autoinmunes	
Fístulas de Enfermedad de Crohn	6
Fístulas no asociadas a Enfermedad de Crohn	1
Osteoartritis	5
Artritis reumatoide grave/Artritis degenerativa	2
Esclerosis Lateral Amiotrófica/Esclerosis Múltiple	3
Tejidos blandos y duros	
Parálisis de cuerdas vocales	1
Fractura	1
Reconstrucción de mamas	1
Lipodistrofia	1
Epicondilitis lateral	1
Necrosis de cabeza femoral	1
Atrofia hemifacial progresiva	1
Ulceras de pie diabético	1
Otros	
Rechazo de trasplante de células hematopoyéticas	1
Quemadura de segundo grado/cicatrices profundas	2
Daño cerebral/Ataxia cerebral	2
Injuria en medula espinal	2
Disfunción eréctil	1
Incontinencia urinaria	1
Sepsis	1
Pacientes sanos	2

Fuente: elaboración propia a partir de búsqueda en www.clinicaltrials.gov.

5. ASPECTOS NORMATIVOS RELACIONADOS CON LA PRODUCCIÓN DE ASCS

Ante el creciente interés en el potencial terapéutico de las ASCs en condiciones que son de difícil tratamiento, nace la necesidad de contar con normas estandarizadas para la recolección, procesamiento, identificación, preservación y distribución de las células madres que

aseguren su calidad y seguridad, ya que como cualquier fármaco tendrán efecto directo en la salud de las personas. Para cumplir con estos requerimientos es que la producción de ASCs debe realizarse bajo las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), que se definen como un sistema de aseguramiento de calidad, que garantiza que todos los aspectos de producción desde las materias primas, establecimientos, equipos, autoinspección, hasta la

formación e higiene del personal, se realizan de acuerdo a estándares de calidad para asegurar que los productos cumplen con las normas apropiadas para su uso previsto y según lo que exigen las autorizaciones de comercialización (46).

La terapia celular, debido a su naturaleza, requiere de consideraciones específicas debido a que presenta mayor variabilidad y mayor probabilidad de contaminación, frente a los productos farmacéuticos convencionales. Es un desafío aún mayor, la producción de células para uso clínico que estén en cumplimiento con las normas de BPM. A continuación, se analizará el estado del arte referente a las normas que regulan la producción de ASCs para terapia celular y los puntos críticos dentro de dicho proceso.

En Estados Unidos, la Food and Drug Administration (FDA) ha establecido un marco regulatorio basado en la prevención del uso de tejidos o células contaminadas y de la manipulación inadecuada que pueda dañar o contaminar dichos tejidos o células, y, por último, la seguridad del uso clínico de los tejidos o células, luego de ser procesados y combinados con otros componentes. De acuerdo con el Código de Reglamentos Federales, Título 21, Parte 1271 (47), los productos derivados de células y tejidos humanos (HCT/Ps) se clasifican en dos grupos con distintos niveles de regulación. Primero se encuentran los productos de bajo riesgo o “mínimamente manipulados” que incluyen a tejidos estructurales y células que al ser procesados no ven alteradas sus características biológicas originales, son de uso homólogo, no se combinan con otros componentes y no deben tener efecto sistémico ni depender de la actividad metabólica de las células vivas para su función primaria, o en el caso contrario ser solo de uso autólogo, estos productos “mínimamente manipulados” deben cumplir con las BPM. Por otro lado, se describen los productos de alto riesgo o “más que mínimamente manipulados”, que consideran procesos como expansión *ex vivo*, combinación con componentes que no son células o tejidos (28,48). Dentro de este grupo de productos biológicos se incluyen las MSCs derivadas de tejidos periféricos, como las ASCs, que además de producirse bajo las BPM deben cumplir con las especificaciones de las Buenas Prácticas Actuales de Tejidos (BPAT) (28,49). Estas normas comprenden tanto a las instalaciones, control medioambiental, equipos, controles de proceso, etiquetado, almacenamiento, distribución, como a la elección del donante y las pruebas que se debe realizar al producto.

En el caso de Europa, estas células se han clasificado como productos medicinales de terapia avanzada, ATMPs por sus siglas en inglés, y se rigen bajo la Regulación Europea No. 1394/2007 (50), que contiene normas para la autorización, supervisión y requerimientos técnicos referentes a las características del producto y su etiquetado, siendo preparado mediante métodos industriales o en instituciones académicas (51).

6. FACTORES CRÍTICOS EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN

6.1. Donantes

Para la selección de donantes la Directiva 2006//17/EC de la Comisión Europea, indica que se deben cumplir una serie de criterios que están enfocados en la salud y en los antecedentes patológicos de los donantes, excluyendo a personas con antecedentes de enfermedades de etiología desconocida, enfermedades malignas, infecciones generalizadas no controladas, con riesgo de transmisión de VIH, hepatitis B, hepatitis C y otras enfermedades transmisibles. Para esto, algunas de las pruebas biológicas a realizar incluyen la presencia de anticuerpos anti VIH-1,2, anti HBc y anti VHC- Ab. Además se debe contar con documentación que identifique al donante y los detalles de su consentimiento informado (52).

6.2. Recolección de muestras y aislamiento de ASCS

La recolección del tejido adiposo se puede realizar mediante una liposucción u otro procedimiento similar (53), que debe llevarse a cabo en condiciones asépticas y estériles (48) que garantice, además, la salud, seguridad e intimidad del donante (52). Para la extracción de la fracción vascular estromal desde el lipoaspirado, los sistemas cerrados, que corresponden a dispositivos automatizados herméticamente sellados, podrían ser utilizados en el quirófano luego de la cirugía, lo que reduciría el riesgo de contaminación ya que disminuyen la exposición al ambiente, pero estos sistemas no son compatibles con las normas de BPM vigentes, ya que para este procedimiento se requieren laboratorios de área limpia (27,54).

6.3. Áreas limpias

Tanto la EMA como la FDA, establecen que la fabricación de productos estériles debe realizarse en áreas limpias. Según la ISO 14644-1 estas áreas se clasifican de acuerdo a la concentración de partículas en el aire y para este caso se describen cuatro clases de áreas limpias (Tabla 3). Para las áreas clase A se permite un máximo de 3.520 partículas de tamaño $\geq 0,5 \mu\text{m}$ y 20 partículas de tamaño $\geq 5,0 \mu\text{m}$ por m^3 de aire, tanto en estado de “operación” como “en reposo”. Por su parte, para la clase B los límites son de 352.000 para partículas $\geq 0,5 \mu\text{m}$ y 2.900 para partículas $\geq 5,0 \mu\text{m}$ en “operación”, mientras que “en reposo” son máximo 3.520 partículas $\geq 0,5 \mu\text{m}$ y 29 partículas $\geq 5,0 \mu\text{m}$ (55).

Adicionalmente, un área clase A debe tener un flujo de aire unidireccional, con una velocidad de 0,36 a 0,54 m/s, que debe ser verificada mediante pruebas de visualización del aire. Estas áreas están descritas para zonas locales (cabinas), donde se llevan a cabo operaciones de alto riesgo como producción y llenado en condiciones asépticas. Por su parte, las áreas clase B deben ser el entorno de un área de clase A (56). Debido a ello la extracción y cultivo de las células madres en un sistema abierto, se debe realizar en una cabina clase A, dentro de una sala clase B (51). Mientras que las áreas C y D son

utilizadas para procedimientos menos críticos de la fabricación, en los cuales el producto no está directamente

expuesto (56).

Tabla 3. Máxima concentración permitida de partículas en el aire.

Clase	En reposo		En Operación	
	0,5 µm	5,0 µm	0,5 µm	5,0 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900
C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	No definido	No definido

Fuente: Adaptado de ISO 14644-1, 1999.

6.4. Personal

Según el Anexo 3 desarrollado por la OMS, referido a las normas GMP implicadas en la fabricación de productos biológicos, el personal responsable de la producción y control de los productos biológicos debe tener una formación afín con disciplinas científicas, tales como microbiología, biología, química, medicina, farmacia, farmacología, inmunología, entre otras. Además, el personal debe recibir capacitación respecto de los procedimientos de desinfección, higiene y microbiología, que enfatizan en el riesgo de contaminación microbiana, los microorganismos objetivos y los medios de cultivo utilizados. Por otra parte, para garantizar la seguridad del producto se debe considerar el estado de salud del personal, ya que éste no puede acceder al área de fabricación si presenta alguna enfermedad infecciosa o lesiones abiertas. Así también, se debe considerar la higiene del personal, quien debe llevar la vestimenta adecuada a una sala limpia estéril (capucha, mascarilla, overol, guantes libres de polvo y botas) (57).

6.5. Materiales

En la producción de ASCs se utilizan diversos materiales que participan en la recolección, digestión del tejido de origen y cultivo celular, como sueros, medios de cultivo, antibióticos (penicilina y estreptomycin) y enzimas (11,29,44,48,54), como tripsina (20) y colagenasa tipo I de origen bacteriano, aunque también podría utilizarse una tipo II o IV (54). Estos también pueden comprometer la calidad, seguridad y eficacia del producto final y ya que no se puede realizar una esterilización terminal del producto, cada sustancia debe ser claramente especificada y evaluada, garantizando su esterilidad, ausencia de agentes contaminantes y bajo nivel de endotoxinas (58). También se requiere, en especial para materiales de origen animal, la prevención y control de contaminación por agentes adventicios virales y no virales, como por ejemplo bacterias, hongos y agentes transmisibles de encefalopatía espongiiforme, como se indica en el Eudrallex, vol. 2B (59). El suero bovino fetal, que es usado en muchas investigaciones con ASCs (11,29,48,54,60) puede ser portador de agentes transmisibles de encefalopatía espongiiforme bovina. La FDA recomienda no utilizar dichos sueros si proceden de

animales que pertenezcan a países en los que se haya producido la enfermedad (61). Además la EMA recomienda que cuando se pueda elegir, se prefiera materiales derivados de animales no rumiantes o materiales que no sean de origen animal (62).

6.6. Infraestructura y equipos

Los productos biológicos no deben ser producidos ni envasados en áreas en que se fabriquen otros productos farmacéuticos (57). Además, deben estar separados de áreas donde se obtienen fluidos o tejidos biológicos, ya que ambos factores aumentan el riesgo de contaminación cruzada (58).

Por otra parte, tanto las áreas como los equipos implicados en la fabricación deben ser adecuados para la producción aséptica, por lo que se debe contar con procesos validados para sanitización y esterilización (57,58). En estos procesos se deben tomar precauciones en cuanto a la seguridad del personal y del medio ambiente, y además considerar que la elección de los agentes desinfectantes no debe afectar el posterior rendimiento de los equipos utilizados (57).

Como ya se mencionó, para el proceso de producción de ASCs se requieren instalaciones estériles que cumplan con las normas de BPM, como cabinas de bioseguridad clase A, dentro de salas clase B. Entre los equipos utilizados se encuentran filtros, pipetas estériles, centrífuga, citómetro de flujo y biorreactores (54).

7. CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO CELULAR

Se debe realizar una caracterización del producto en cuanto a su identidad, pureza y potencia (58). La FDA y la EMA establecen que la identidad de los productos celulares se debe determinar en cuanto a un patrón de expresión de marcadores de identificación (58,63). En el caso de las ASCs es necesario cumplir los criterios establecidos por la ISCT (8) que identifican de forma general a las MSCs provenientes de distintos tejidos, como se mencionó anteriormente:

(1) Adherencia al plástico, en condiciones estándares de cultivo (8).

(2) Marcadores de superficie específicos. Deben presentar CD105, CD73 y CD90 y carecer de CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 α y CD19. Sin embargo, a

través de las diversas investigaciones se han descrito algunas diferencias con respecto al perfil que presentarían las ASCs, llegando al consenso de que las ASCs resultan positivas para los marcadores: CD13, CD29, CD44, CD49d, CD90 y CD105. Siendo negativas para marcadores como CD14, CD31, CD45 y CD144, que corresponden a antígenos hematopoyéticos (9,64,65).

(3) Diferenciación a condroblastos, osteoblastos y adipocitos. Este criterio es el de mayor relevancia y se realiza induciendo la diferenciación de las ASCs a las líneas celulares ya mencionadas. La diferenciación a osteoblastos se puede llevar a cabo utilizando un medio de cultivo que contenga como agentes inductores osteogénicos, dexametasona (0,1 μM), ácido L-ascórbico 2-fofato (50 μM) y β -glicerofosfato (10 mM), que luego puede ser confirmada mediante tinción von Kossa, que produce un precipitado negro-marrón en presencia de fosfato de calcio (11,54). De modo similar, para la diferenciación a adipocitos se pueden utilizar como inductores: dexametasona (1,0 μM), 3-isobutil-1-metilxantina (IBMX 0,5 mM), indometacina (0,2 mM) e insulina (10 μM), dicha diferenciación se confirma mediante la formación de vacuolas y su tinción con Oil Red O. Conjuntamente, en el caso de los condroblastos, se puede inducir la diferenciación utilizando L-ascorbato-2-fosfato (50 $\mu\text{g/mL}$), insulina (6,25 $\mu\text{g/mL}$), transferrina (6,25 $\mu\text{g/mL}$) y factor de crecimiento transformante β 1 (TGF β 1, 10 ng/mL), y se confirma la condrogénesis fijándolos en paraformaldehído al 4,0%, incubándolos con HCl (0,1 N) y determinando la presencia de proteoglicanos sulfatados con tinción Azul Alcían (54).

Por otra parte, un producto basado en células madres se puede considerar “puro” aun cuando contenga más de un tipo celular. Dentro de los contaminantes de interés se pueden presentar células madres residuales y células que se han diferenciado a un tipo celular no deseado, para las cuales se deben definir criterios de aceptación, que limiten su cantidad (58). Se considera que la ausencia de un contaminante de este tipo se podría garantizar por la incapacidad de detectar el tipo celular en una muestra del producto (63).

Por último, la potencia, que se reconoce como la medida cuantitativa de la actividad biológica de un producto, debe ser evaluada con respecto al efecto biológico deseado (63), es decir, a la respuesta clínica que se obtenga con las ASCs. Las pruebas de potencia pueden llevarse a cabo tanto *in vitro* en líneas celulares, como *in vivo* en animales, deben realizarse con un número validado de células y el resultado se expresa mediante el tiempo requerido para obtener el efecto buscado, como restauración de una función o reparación de una estructura anatómica (58).

8. CONCLUSIÓN

El gran progreso en el área de investigación de células madres derivadas de adipocitos ha logrado demostrar que éstas presentan ventajas que avalan el desarrollo que han tenido en su aplicación como terapia regenerativa,

mediante los múltiples ensayos clínicos que se están desarrollando y la primera terapia recientemente aprobada por la EMA, lo que las ha posicionado dentro del mercado farmacéutico. Estos avances significan un beneficio considerable para los pacientes, sobre todo para aquellos que sufren ciertas enfermedades que conllevan complicaciones de difícil manejo, en que el organismo no es capaz de recuperar su función con los tratamientos actuales. Se espera que esta alternativa de medicina regenerativa se siga potenciando, por lo que es de vital importancia llevar a cabo un proceso de producción que cumpla con los sistemas de calidad existentes. Por su parte, debido a alta variabilidad que pueden presentar los productos celulares de acuerdo a su producción, se considera necesario que dichos sistemas de calidad también se sigan desarrollando y sean cada vez más específicos para cada producto celular, con el fin de asegurar la eficacia y seguridad en los pacientes.

9. LISTA DE ABREVIATURAS

ASCs adipose-derived stem cells, células troncales derivadas de tejido adiposo.

bFGF factor de crecimiento básico derivado de fibroblastos.

BHE barrera hematoencefálica.

BPA buenas prácticas actuales de tejidos.

BPM buenas prácticas de manufactura.

DMEM Dulbecco's modified Eagle's medium.

EMA Agencia Europea del Medicamento.

FDA Food and Drug Administration.

FGF-2 factor de crecimiento de fibroblastos 2.

HGF factor de crecimiento derivado de hepatocitos.

IM infarto al miocardio.

ISCT International Society for Cellular Therapy.

MSC-BM mesenchymal stem cells derived from bone marrow, células madre mesenquimales derivadas de médula ósea.

MSCs células madre mesenquimales.

SC stem cells, células madre.

SVF fracción vascular estromal.

VEGF factor de crecimiento endotelial vascular.

CONFLICTO DE INTERÉS

INBIOCRIOTEC SA es un Consorcio Biotecnológico chileno y tiene por objeto transferir al mercado, invenciones, servicios, productos y/o terapias de alta tecnología en ingeniería de tejidos y bancos de criopreservación en forma rentable y que apoyen el desarrollo de la Medicina Regenerativa para el mercado nacional e internacional.

10. AGRADECIMIENTOS

Caroline Weinstein-Opppenheimer y Patricia Carreño González son investigadoras del Centro de Investigación Farmacopea Chilena, Universidad de Valparaíso, Chile.

11. REFERENCIAS

1. Hsu Y, Fuchs E. A family business: stem cell progeny join the niche to regulate homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13(2):103–14.
2. Sobhani A, Khanlarkhani N, Baazm M, Mohammadzadeh F, Najafi A, Mehdinejadani S, et al. Multipotent Stem Cell and Current Application. *Acta Med Iran.* 2017;55(1):6–23.
3. Shoukhrat M, Wolf D. Totipotency, Pluripotency and Nuclear Reprogramming. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2009;114:185–99.
4. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell.* 2007;131(5):861–72.
5. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell.* 2006;126(4):663–76.
6. Collins CA, Olsen I, Zammit PS, Heslop L, Petrie A, Partridge TA, et al. Stem Cell Function, Self-Renewal, and Behavioral Heterogeneity of Cells from the Adult Muscle Satellite Cell Niche. *Cell.* 2005;122(2):289–301.
7. Moore KA, Lemischka IR. Stem Cells and Their Niches. *Science (80-).* 2006;311(5769):1880–5.
8. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315–7.
9. Zuk P. Adipose-Derived Stem Cells in Tissue Regeneration: A Review. *ISRN Stem Cells.* 2013;2013(1).
10. Giacoppo S, Bramanti P, Mazzon E. The transplantation of mesenchymal stem cells derived from unconventional sources: an innovative approach to multiple sclerosis therapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2017;1–17.
11. Zuk P, Ph D, Zhu MIN, Mizuno H, Benhaim P, Lorenz HP. Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211–28.
12. Hanke A, Prantl L, Wenzel C, Michael N, Brockhoff G, Loibl M, et al. Semi-automated extraction and characterization of Stromal Vascular Fraction using a new medical device. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;64(3):403–12.
13. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.* 2007;100(9):1249–60.
14. Zhu X, Shi W, Tai W, Liu F. The comparison of biological characteristics and multilineage differentiation of bone marrow and adipose derived Mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res.* 2012;350(2):277–87.
15. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(20):9363–7.
16. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso ZC, Zuk PA, Zhu M, et al. Comparison of Multi-Lineage Cells from Human Adipose Tissue and Bone Marrow. *Cells Tissues Organs.* 2003;174:101–9.
17. Schäffler A, Büchler C. Concise Review: Adipose Tissue-Derived Stromal Cells—Basic and Clinical Implications for Novel Cell-Based Therapies. *Stem Cells.* 2007;25(4):818–27.
18. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics (IFATS) and Science and the International S. *Cytotherapy.* 2013;15(6):641–8.
19. Fekete N, Rojewski M, Fürst D, Kreja L, Ignatius A, Dausend J, et al. GMP-Compliant Isolation and Large-Scale Expansion of Bone Marrow-Derived MSC. *PLoS One.* 2012;7(8):1–13.
20. Zhu Y, Liu T, Song K, Xiubo F, Ma X, Cui Z. Adipose-derived stem cell: a better stem cell than BMSC. *Cell Biochem Funct.* 2008;26(6):664–675.
21. Aust L, Devlin B, Foster S, Halvorsen Y, Hicok K, du Laney T, et al. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy.* 2004;6(1):7–14.
22. Baer PC, Geiger H. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: Tissue localization, characterization, and heterogeneity. *Stem Cells Int.* 2012;2012.
23. Pittenger M, Mackay A, Beck S, Jaiswal R, Douglas R, Mosca J, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science (80-).* 1999;284(5411):14–147.
24. Subbanna P. Mesenchymal stem cells for treating GVHD: in-vivo fate and optimal dose. *Med Hypotheses.* 2007;69(2):469–70.
25. Bajek A, Gurtowska N, Olkowska J, Kazmierski L, Maj M, Drewa T. Adipose-Derived Stem Cells as a Tool in Cell-Based Therapies. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2016;64(6):443–54.
26. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula including Crohn's disease. *Expert Opin Biol Ther.* 2008;8(9):1417–123.
27. Jeffrey G, Bunnell B, Guilak F. Clinical Translation. *Regen Med.* 2012;7(2):225–35.
28. Gir P, Oni G, Brown SA, Mojallal A, Rohrich R. Human Adipose Stem Cells: Current. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129(6):1277–90.
29. Ii M, Horii M, Yokoyama A, Shoji T, Mifune Y, Kawamoto A, et al. Synergistic effect of adipose-

- derived stem cell therapy and bone marrow progenitor recruitment in ischemic heart. *Lab Investig.* 2011;91(4):539–52.
30. Mazo M, Gavira JJ, Pelacho B. Adipose-derived Stem Cells for Myocardial Infarction. *J Cardiovasc Transl Res.* 2011;4(2):145–53.
 31. Koh YG, Choi YJ. Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. *Knee.* 2012;19(6):902–7.
 32. Koh YG, Choi YJ, Kwon SK, Kim YS, Yeo JE. Clinical results and second-look arthroscopic findings after treatment with adipose-derived stem cells for knee osteoarthritis. *Knee Surg Sport Traumatol Arthrosc.* 2013;23(5):1308–16.
 33. Loma I, Heyman R. Multiple Sclerosis: Pathogenesis and Treatment. *Curr Neuropharmacol.* 2011;9(3):409–16.
 34. Ghasemi N. Therapeutic effects of adipose derived mesenchymal stem cells on remyelination process in inflammatory demyelinating diseases. *J Histo Histopathol.* 2015;2(1):1–8.
 35. Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet.* 2012;380(9853):1590–605.
 36. Scharl M, Rogler G. Pathophysiology of fistula formation in Crohn's disease. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2014;5(3):205–12.
 37. Cao Y, Ding Z, Han C, Shi H, Cui L. Efficacy of Mesenchymal Stromal Cells for Fistula Treatment of Crohn's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dig Dis Sci.* 2017;62(4):851–60.
 38. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum.* 2005;48(7):1416–23.
 39. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual J, Del-Valle E, Zorrilla J, et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum.* 2009;52(1):79–86.
 40. García-Olmo D, Herreros D, Pascual M, Pascual I, De-La-Quintana P, Trebol J, et al. Treatment of enterocutaneous fistula in Crohn's Disease with adipose-derived stem cells: a comparison of protocols with and without cell expansion. *Int J Colorectal Dis.* 2009;24(1):27–30.
 41. Panés J, García-Olmo D, Van Assche G, Colombel JF, Reinisch W, Baumgart DC, et al. Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn's disease: a phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet.* 2016;388(10051):1281–90.
 42. Defrancesco L, Lilly BE. Drug pipeline: 2Q17. *Nature Biotechnology.* 2017; 8;35(8):703.
 43. Molendijk I, Bonsing BA, Roelofs H, Peeters KCMJ, Wasser MNJM, Dijkstra G, et al. Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Promote Healing of Refractory Perianal Fistulas in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology.* 2015;149(4):918–27.
 44. De la Portilla F, Alba F, García-Olmo D, Herreras JM, González FX, Galindo A. Expanded allogeneic adipose-derived stem cells (eASCs) for the treatment of complex perianal fistula in Crohn's disease: results from a multicenter phase I / IIa clinical trial. *Int J Color Dis.* 2013;28(3):313–23.
 45. National Institutes of Health. *ClinicalTrials.gov*. Registry and results database of publicly and privately supported clinical studies of human participants conducted around the world. 2013.
 46. WHO Technical Report Series No. 908. WHO Good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles, Annex 2. Geneva; 2014.
 47. 21 C.F.R. § 1271.3. 2016.
 48. Larijani B, Aghayan H, Goodarzi P, Mohamadi-Jahani F, Norouzi-Javidan A, Reza Dehpour A, et al. Clinical Grade Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cell Banking. *Acta Med Iran.* 2015;53(9):540–6.
 49. 21 C.F.R. §1271 Subpart D. 2017.
 50. European Commission. Regulation (EC) No 1394/2007 of The European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. *Off J Eur Union.* 2007;50:121–37.
 51. Sensebé L, Gadelorge M, Fleury-Cappellesso S. Production of mesenchymal stromal / stem cells according to good manufacturing practices : a review. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4(3):66–71.
 52. Commission Directive 2006/17/EC. Implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells. 2006.
 53. Gimble JM, Guilak F, Bunnell BA. Clinical and preclinical translation of cell-based therapies using adipose tissue-derived cells. *Stem Cell Res Ther.* 2010;1(2):19–26.
 54. Zhu M, Heydarkhan-Hagvall S, Hedrick M, Benhaim P, Zuk P. Manual Isolation of Adipose-derived Stem Cells from Human Lipoaspirates. *J Vis Exp.* 2013;79:1–10.
 55. ISO14644-1. Clean rooms and associated controlled environments. Part 1: Classification of airborne particles. Geneva; 1999.
 56. WHO Technical Report Series No 961. WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products, Annex 6. 2011.
 57. WHO Technical Report Series No. 996. WHO good manufacturing practices for biological products, Annex 3. Geneva; 2016.
 58. Committee for Medicinal Products for Human Use.

- Guideline on human cell-based medicinal products. EMEA/CHMP/410869/2006. 2006.
59. Commission Directive 2003/63/EC. Eudralex Volume 2B, Notice To Applicant, part II-V: virological documentation. 2003.
 60. Mizuno H, Tobita M, Uysal A. Concise review: adiposederived stem cells as a novel tool for future regenerative medicine. *Stem Cells*. 2012;30(5):804–10.
 61. Asher D. Bovine sera used in the manufacture of biologicals: current concerns and policies of the U.S. Food and Drug Administration regarding the transmissible spongiform encephalopathies. *Dev Biol Stand*. 1999;99:41–4.
 62. Committee for Medicinal Products for Human Use. Note for guidance on the use of bovine serum in the manufacture of human biological medicinal products. EMA/CHMP/BWP/457920/2012. 2012.
 63. Gould Halme D, Kessler DA. Health Policy Report: FDA Regulation of Stem Cell Based Therapies. *N Engl J Med*. 2006;355:1730–5.
 64. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells. *Mol Biol Cell*. 2002;13(12):4279–95.
 65. Zannettino A, Patron S, Arthur A, Khor F, Itescu S, Gumble J, et al. Multipotential human adipose-derived stromal stem cells exhibit a perivascular phenotype in vitro and in vivo. *J Cell Physiol*. 2008;214(2):413–21.



The contribution of Francis Home (1720-1813) and William Lewis (1708-1781), pharmaceutical authors, to the alkalis and bleaching

Title in Spanish: *La contribución de Francis Home (1720-1813) y William Lewis (1708-1781), autores farmacéuticos, a los álcalis y el blanqueo*

Purificación Sáez Plaza¹, Julia Martín², Enrique Jacobo Díaz-Montaña¹, Agustín G. Asuero^{1,*}

¹Departamento de Química Analítica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. ²Departamento de Química Analítica, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Sevilla.

ABSTRACT: A brief on bleaching and alkalis is given previous to the life and contributions of Francis Home and William Lewis, pharmaceutical profile authors. The relevance of their work and the worth of their publications are revealed. Chemistry and practice go hand in hand in the development of these issues.

RESUMEN: Se efectúa una aproximación al blanqueo de tejidos y al uso de los álcalis con carácter previo a considerar las contribuciones de Francis Home y William Lewis, autores de perfiles farmacéuticos. Se muestra la relevancia de sus trabajos y el valor de sus publicaciones. La química y la práctica van de la mano en el desarrollo de estos temas.

*Corresponding Author: asuero@us.es

An Real Acad Farm Vol. 83, N° 4 (2017), pp. 403-420

Received: November 12, 2017 Accepted: December 18, 2017

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

En este trabajo se destaca la importancia que tuvo en los inicios del análisis volumétrico la evolución de la industria de los álcalis y del blanqueo de fibras textiles, haciendo especial hincapié en las figuras de Francis Home (1720-1813) y William Lewis (1708-1781), dado su perfil farmacéutico, y la naturaleza de sus contribuciones. La química, como queda puesto de manifiesto, juega un papel vital en los comienzos y en el desarrollo de la revolución industrial. Los analistas académicos contemplan el análisis como un medio de probar la teoría química, e.g., la afinidad, mientras que en el campo de las necesidades industriales el análisis juega un papel de servicio. Las innovaciones no surgen como consecuencia de la incertidumbre en la disponibilidad de materiales y/o la dificultad de acceso a tierras para exposición de los tejidos en el proceso de blanqueo, sino por la lentitud con que se lleva a cabo éste en sí mismo. El crecimiento de la química del siglo XVIII va paralelo con el crecimiento de la manufactura química.

2. EL PROCESO DE BLANQUEO

La palabra blanqueo se deriva probablemente del término francés “blanchiment”, que significa el proceso de volverse blanco (1, p. 757). La introducción del cloro constituye el inicio de una nueva era en la industria del blanqueo. Scheele, descubridor del gas cloro en 1774, describe su peculiar propiedad de destruir el color de la materia vegetal, en un trabajo sobre el manganeso publicado en las Memorias de la Real Academia de Estocolmo. La sustancia recibe el nombre (2-3) de ácido

marino desflogisticado debido a la suposición de producirse al sustraer la hipotética substancia denominada flogisto del ácido muriático (HCl). Berthollet (4) da cuenta en 1785 (impreso en 1788) de su valor como agente de blanqueo, y es el primero en producir hipocloritos (agua de Javel), que prácticamente ha sido desde entonces el único agente de blanqueo utilizado para las fibras vegetales. Influenciado por las nuevas teorías químicas existentes, Berthollet explicaba la acción del gas indicando que el cloro suministraba el oxígeno que transfería al objeto blanqueado. Davy muestra más tarde que el cloro es incapaz de alterar los colores vegetales y que su operación de blanqueo (3, 5) depende enteramente de su propiedad de reaccionar con el agua y liberar oxígeno. La química y no la práctica empírica, es la que contribuye al desarrollo notable del proceso de blanqueo (en contraposición a la industria del álcali sintético, en la que predomina la práctica empírica).

Previo a la introducción del cloro, el procedimiento de blanqueo era lento y tedioso (6-11). La primera operación era la del remojo, o inmersión del hilo en agua caliente o en una disolución alcalina fría. Cuando se usaba agua, la operación duraba tres o cuatro días, siendo 48 horas suficientes con la lejía (sosa cáustica). Los artículos se lavaban y hervían en disolución alcalina de cuatro o cinco horas, exponiéndose sobre la hierba de dos a tres semanas. Se hervían de nuevo, sacudían, lavaban y exponían (“crofted”) nuevamente. Estas operaciones se repetían unas cuatro o cinco veces, reduciéndose cada vez la fuerza (10) de la disolución alcalina. El tiempo de operación

dependía de la calidad de los artículos; el lino requería al menos seis meses y los artículos de algodón de tres semanas a tres meses. El siguiente proceso era el de agriado (*souring*), que hasta la mitad del siglo XVIII, consistía en dejar en remojo los artículos durante varias semanas en mantequilla de leche agriada. Francis Home (12, p. 99) preconizó en 1799 el uso de ácido sulfúrico (vitriolo) en lugar de mantequilla de leche, acortándose la operación hasta unas horas

“128. La leche necesita cinco días para hacer su efecto;

pero el aceyte de vitriolo le bastan cinco horas, y puede ser que cinco minutos para hacer el suyo...”

¿Qué uso tendrían las invenciones mecánicas que incrementaban la producción del algodón y de lino si hubieran requerido de meses para su término? Resulta curioso que cuando se adoptó este cambio, es del ácido sulfúrico, se puso el grito en el cielo alertando contra su efecto corrosivo (1, p. 758), al igual que ocurrió más tarde con el uso del cloro.

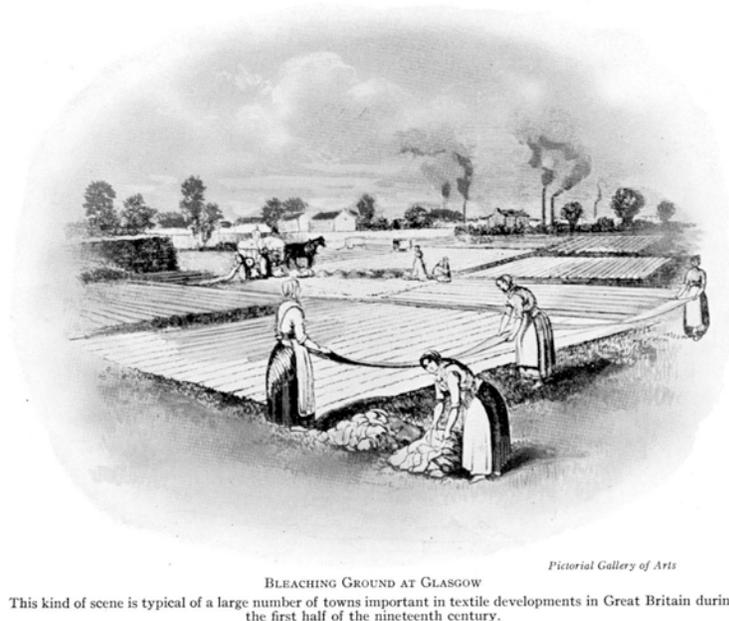


Figura 1. Blanqueo de los tejidos al aire libre (10) (Park y Glouberman, 1932).

Debido a este descubrimiento, llevado a cabo por Home, una gran parte del algodón inglés y de la tela de lino, que se enviaba previamente al extranjero, en particular a Holanda, se blanquea ahora en su lugar de origen. El bajo coste con el que podía prepararse el ácido sulfúrico mediante el proceso de las cámaras de plomo de Roebuck, menos de un tercio de su precio primitivo, facilitó su introducción (12, p. 99) en la industria del blanqueo

“129. El ácido que se saca de la leche es muy caro, y por lo ordinario cuesta trabajo hallarle; pero el vitriolo es cosa barata, y puede conseguirse fácilmente en todo tiempo.”

Como consecuencia del método de Home (1, 10) se establecen campos de blanqueo (Figura 1) en Escocia, Irlanda, y en la parte norte de Inglaterra. Más tarde, Lancashire se hace famosa por sus terrenos de blanqueo. El bajo costo del alquiler de las tierras fue una de las razones que fomentaron el establecimiento de negocios de impresión en dicha región. Los blanqueadores de verde jugaron tal papel a su vez en los desarrollos locales, que estaban protegidos por ley de los ladrones; el robo de la ropa era una ofensa capital, y en 1786 llegó a ser ejecutado un hombre en Bolton por robar treinta yardas de este

material. Como resultado de las enseñanzas de Home (11, p. 145), y de otros químicos eminentes como Cullen y Black, los fabricantes se interesaron en la aplicación de la química a sus procesos, lo que motivó en parte los grandes avances químicos que tuvieron lugar al finales de siglo. Investigación y experimentación unidos de la mano conducen al logro de grandes beneficios.

3. EL PAPEL DE LOS ÁLCALIS

La Materia Médica de Dioscórides, texto práctico al servicio de la medicina, contempla un gran número de plantas medicinales (13, p. 71), constituyendo el referente del reino vegetal en el siglo XVII. Algunas de estas plantas de las que se extraían las cenizas, y las propias cenizas tenían usos terapéuticos (14-15), incluyéndose en obras de esta naturaleza y, más tarde en las Farmacopeas oficiales.

La diferencia entre carbonato de sodio y de potasio, los dos álcalis fijos, eran bien conocidas a finales del siglo XVII. La sal de sodio, denominada álcali mineral (dada su presencia en la eflorescencia de los lechos de sal en el desierto egipcio, en forma de hidrato) se obtenía principalmente a partir de las cenizas de las plantas marinas. Estas convierten el cloruro sódico del agua del mar en oxalato, tartrato y otras sales orgánicas, originando sosa por incineración y lixiviación (16, p. 154). Las cenizas

obtenidas al quemar algunas plantas que crecían en estado silvestre a lo largo de las costas mediterráneas se denominaban barrilla (17), siendo las producidas en la provincia de Alicante (17-23) las de mejor calidad.

De las cenizas de plantas terrestres (24) se obtenía la sal potásica o álcali vegetal, que en esa época dominaba el mercado, al ser más barata y más fácilmente accesible que la barrilla, cuyo mercado era además incierto, debido a las vicisitudes políticas. La palabra potasa, relativamente moderna, proviene del hecho de que los extractos alcalinos de cenizas de madera (25, p. 749) se concentran en forma sólida en granos (spots). El proceso de lixiviación de las cenizas de madera conducente a la obtención de los álcalis solubles que contienen era conocido por los griegos y romanos, aunque no distinguían entre potasa y sosa, que recibían el nombre de *nitrum*.

El carbonato de potasio crudo procedente de las cenizas, se purificaba tratando el producto pulverizado con la mínima cantidad de agua fría con objeto de disolver el carbonato, filtrando el residuo no disuelto de sulfato potásico y otras sales menos solubles, evaporando a continuación a sequedad y calcinando nuevamente, obteniéndose así las cenizas perladas (25, p. 753), de color y pureza superior a la potasa cruda, aunque conteniendo todavía una cantidad perceptible de cloruro potásico y de otras sustancias más solubles.

En 1807 Humphry Davy separa un nuevo elemento ((26, p. 438) por electrolisis de la potasa cáustica fundida y le dio el nombre de potasio, y el símbolo químico K (Latín Kalium), del árabe kali o keli, esto es, la ceniza de la planta de la cual se obtienen los compuestos del metal alcalino. De la misma manera, describe el álcali hermano que llamó sodio, cuyo símbolo es Na (Natrium, natrón).

La fuente de álcali natural (27, pp. 65-90) provenía de la antigua industria escocesa de las algas (kelp, especialmente del género Laminaria). El análisis químico asociado a esta industria era más bien escaso, aunque el método (28) de Tennant (1817) de estimar barrilla (álcali impuro) constituía un claro ejemplo de análisis volumétrico. Los orígenes de la antigua industria del blanqueo, arte empírico, radican en la tecnología helenística. La dependencia de las propiedades clarificadoras de las disoluciones alcalinas era obvia, requiriendo antes de disponer del álcali sintético de Leblanc, de los álcalis naturales (29-32) procedentes de algas y otras plantas. Estos procedimientos empíricos carecían entonces del conocimiento químico del que hoy se dispone.

Los historiadores de la ciencia no dejan de sorprenderse (33, p. 122) por el número de científicos eminentes que afloran en Escocia a mediados del siglo XVIII. Colin Maclaurin, Alexander Monro Primus, William Cullen, Joseph Black, y Robert Whytt, no requieren carta de presentación. Sus aportaciones se complementan con las de otros menos conocidos, pero sin duda igualmente importantes, tales como Francis Home, Charles Alston y Henry Homes. Aunque sea difícil dar una contestación inmediata al por qué la ciencia escocesa emerge con fuerza en el siglo XVIII ocupando en Europa una posición prominente, la existencia de esta pléyade no puede

adscribirse a una mera coincidencia. Su transcurrir es, sin duda, una consecuencia de la transformación económica y del simultáneo logro cultural de la Ilustración escocesa. La Philosophical Society of Edinburg se crea en 1737.

Aunque la química había sido practicada antes del siglo XVII por experimentadores como Robert Boyle, languidece más tarde. Los grandes logros de Newton en las ciencias matemáticas habían situado a la mayor parte de los británicos ((34, p. 11) en su órbita, en detrimento de los estudios químicos. Para Thomas Thompson, el nombramiento de William Cullen (1710-1790), en 1756, para ocupar la Cátedra de Química de la Universidad de Edimburgo es el acontecimiento que hace resurgir (34, p. 11; 35, p. 307) el interés en la disciplina.

4. FRANCIS HOME: DETALLES DE SU VIDA Y OBRAS

Francis Home (1720-1813), Figura 2 (36), miembro de una familia de abogados, se educa en Duns (capital de Berwickshire). Ejerce como aprendiz de Rattray (37, p. 103; 38), médico de la ciudad de Edimburgo, donde estudia Medicina. Antes de licenciarse, a la edad de 23 años, participa en la Guerra de Secesión de Austria como cirujano del 6º Regimiento de Dragones en Flandes, cerca de Ghent, sirviendo en Dettingen, 1743, y Fontenoy, 1745, regresando a casa en 1748, una vez firmada la paz en Aix-la-Chapelle. En el intervalo entre campañas complementa su formación en la Facultad de Medicina de la Universidad de Leyden (fundada en 1575), a la que acude. Leyden era entonces la Meca del aprendizaje médico en Europa (39), y atraía a numerosos estudiantes que aprendían a pie de cama, y también a maestros como Herman Boerhaave. Home se gradúa en Edimburgo en 1750, donde se establece, y obtiene la Licencia en el Colegio de Médicos en 1751, llegando a ser Fellow (37, 40) de dicha institución en 1752. Su primera publicación (41) fue la Tesis sobre la fiebre intermitente (“On Remitten Fever, 1750”), que había afectado de forma severa al ejército, un tratado que todavía permanece como uno de los mejores del género, en la que recomienda a la tropa hervir el agua antes de beber

“The dragoons shall drink no water without it be first boiled and a little brandy or gin be mixed with it.”

En 1768 es elegido primer Profesor de Materia Médica de la Universidad, probablemente la primera (42) de su género en el mundo

“the duties of which he executed for thirty years with great industry, zeal and reputation.” (43)

La “Edinburgh Medical School” comienza su andadura en 1670, nombrándose un profesor de botánica en 1676 para enseñar a los estudiantes de medicina (41), ya que la mayor parte de los remedios procedían entonces del Reino Vegetal. Esta situación se perpetúa durante 64 años. A partir de 1738 se conjugan las enseñanzas de botánica y material médica, muy importante esta última en aquella época, puesto que los doctores eran responsables de la preparación de sus propias medicinas. En 1768 el carácter de la cátedra cambia separándose ambas materias,

creándose un departamento independiente de materia médica, posiblemente porque (39) Hope pensaba que:

“that systematic botany and plant physiology had less relation to materia medica than formerly. The latter was now as much mineral- as plant based and required a chemists as much as a botanic to teach it.”

Aparentemente esta no era la única razón. También pesó el deseo de Home de incorporarse a la enseñanza universitaria, dados sus méritos acreditados, y el apoyo del que gozaba por parte de personajes influyentes (44), habiendo pensado incluso accede a la cátedra de química, que fue adjudicada a Joseph Black, mejor situado. Hope mantuvo su salario, por lo que (44)

“Home was dependent on fees for his professional income.”

Gracias al número de estudiantes, Home gozó de una lucrativa posición. Entre sus alumnos cabe mencionar a Daniel Rutherford, descubridor del nitrógeno, y James Gregory (1753-1821), profesor de medicina en la Universidad de Edimburgo. Home publica en 1770 su “*Methodus Materiae Medicae*” (Figura 3 izquierda, (45)), un compendio de materias básicas de drogas destinado a los estudiantes. Existe en la biblioteca de la Real Sociedad de Medicina de Edimburgo un volumen de notas (40) con las lecciones explicadas en 1775-76. En la Figura 3 (derecha)

“The Print represents Dr. Home in his ordinary and contemplative mode of walking the streets of Edinburgh (43).”

En 1775 sucede a Cullen como Presidente del Colegio de Médicos de Edimburgo. Home es designado uno de los “his Majesty’s Physicians” por Escocia. A pesar de sus preocupaciones médicas, que se traducen en la publicación de una serie de obras dignas de mención, y que atrajeron la atención de todo el mundo médico, tales como “*An essay on the contents and virtues of Dunse Spaw (1751)*”, “*Principia Medicinae (1758)*”, “*Medical facts and Experiments (1759)*”, “*An Enquire into the Nature, Cause and Cure of the Croup (1765)*” y “*Clinical Experiments, Histories and Disease (1780)*”, Home encuentra tiempo y energías como para dedicarse a efectuar investigaciones químicas, hecho que despierta sorpresa y admiración. Su vida es un ejemplo de entrega a la enseñanza, la práctica y la investigación. Como indican Kelly y Mackay (39):

“Home was a keen experimenter who documented his observations and understood the need for careful planning and hypothesis building.”

Home fue uno de los fundadores de la Real Sociedad Médica, que tanto ha contribuido a la notoriedad de la Escuela de Medicina de Edimburgo.

5. FRANCIS HOME Y LOS EXPERIMENTOS SOBRE EL BLANQUEO

En 1756 Home publica dos obras importantes. Una de ellas “*Experiments on Bleaching*” (46-47), preparada por expreso deseo del “Honourable Board of Trustees for the

Improvement of Fisheries and Manufactures” (48, p. 109; 49). La obra, destinada a los blanqueadores de la región, se expone en diferentes conferencias, en las que se hacían públicos algunos de los experimentos que se describen. La obra se traduce (50) al francés en 1762 y del francés al (51) alemán en 1777 (*Versuche in Bleidhen*), y al español (Figura 4, (12)) en 1779. Home fue miembro “Correspondiente extranjero” de la Real Academia de Medicina de Madrid (52), fundada en 1734 (también lo eran Baumé, Hope, Beddoes, Chaptal y Guyton de Morveau), mientras que Joseph Black fue miembro “Asociado extranjero” (categoría en la que figuraban también Darcet, Berthollet y Fourcroy; Proust lo era nacional al residir en Segovia). La segunda edición inglesa de “*Experiments on Bleaching*” publicada en Dublín (53) en 1771 tiene un apéndice con contribuciones de Ferguson (54), Black (55) y MacBryde (56).

En su exposición de motivos, Home (12, p. 9) critica el hecho de que la química se vea restringida al campo de las preparaciones farmacéuticas, en contraposición a lo que él denomina verdadera química, cuyo alcance es más amplio

“12 En otros tiempos era la Química una cosa de locura y extravagancia; pero de algún tiempo à esta parte se la ha estrechado yá algo más de lo necesario, y se la han dado unos límites demasiado reducidos. Rara vez se la hace servir para otra cosa que para composiciones medicinales, como si no pudiese hacer otros servicios à los hombres; y en verdad, que su extensión es mucho mayor que todo eso...”

A esta es à la que se puede llamar verdadera Química, o Química filosófica, según la expresión del célebre Boyle, o Química universal, como la llama el Doctor Shaw, para distinguirla de la Química que solo se limita à los medicamentos...”

Home (12, p. 14-15) establece una relación estrecha entre la química y el arte del blanqueo, a pesar de no haberse concebido nunca este punto de vista, y sostiene que la teoría fundamenta la buena praxis, siento esta premisa fundamental para el progreso del arte. El conocimiento de la naturaleza de los productos redundan en un ahorro de tiempo, y es lo que nos permite conseguir los fines deseados

“18 De ningún modo conozco Arte alguna que dependa tanto de la Química como la de Blanquear los lienzos; ni tampoco hay otra que se haya examinado menos baxo este respecto. Echar à macerar los lienzos en agua tibia, colar la legía, aplicar los ácidos, enjabonar las orillas, regar los lienzos, y hacer que se sequen alternativamente; ¿no son todos unos procedimientos que se consiguen por medio del calor, y de los disolventes, poderosos agentes Químicos? ¿qué otra idea se lleva cuando se emplean los ácidos, y los álcalis, si no la de disolver, y extraer lo que da al lienzo su color natural? ¿y qué otro medio mas cierto para hacer desaparecer lo que estos menstros han desprendido, que el de hacer evaporar el agua por el calor, que es una especie de destilación hecha al raso?”



Figura 2. Pintura del Profesor Francis Home (1719-1813), por David Allan (atribuido). Oleo sobre lienzo (71x55 cm). The University of Edinburgh Fine Art Collection. El retrato se encuentra en el despacho del Decano de la Facultad de Medicina de Edimburgo (Enders, 1964, p. 102 (36-37). <http://www.bbc.co.uk/arts/yourpaintings/paintings/professor-francis-home-17191813-93997>

19. He observado que los mas hábiles Blanqueadores entienden bastante bien la teórica general de su arte, pero que; como no tienen tinte alguna de la Química, no pueden hacer el uso conveniente de esta teórica, ni aplicar su conocimiento al progreso de esta arte. Saben que las sales álcalis disuelven los aceites, y que la maceración en el agua tibia, el colado de la legía, y la aplicación de los ácidos, excitan una fermentación; pero la Química les enseñará que hay métodos que animan, y aceleran la fermentación, que por este medio se ahorra tiempo, y que hay otros que hacen perder mucho deteniendo este movimiento, y sin producir el efecto que se desea.”

La química permite conocer la naturaleza compleja de las cenizas y sus principios constituyentes (12, pp. 15-17), y podría facilitar su preparación a mejor precio, evitándose de esta manera la dependencia del extranjero, con el coste económico que ello supone, y que obliga incluso a comerciar con el enemigo en tiempos de guerra

“20. Una de las cosas que menos conocen los Blanqueadores, es la naturaleza, y propiedades de estas sales álcalis, ò cenizas, como ellos las llaman, de que hacen uso. La experiencia los ha enseñado à emplearlas en diferentes proporciones; pero las indagaciones de un Químico son las que pueden descubrir su naturaleza oculta, y sus propiedades las mas secretas. Determinado

una vez este punto, se verá la teórica del Blanquimento apoyada sobre fundamentos mas sólidos que los que tiene al presente; porque ¿cómo se podrá establecer una teórica cierta con respecto à la operación de las cenizas, si ignoramos en qué consiste su naturaleza?

21. Pero no es esta sola la ventaja que espero sacar de un examen de esta especie; porque ¿qué sucedería si estos cuerpos no fuesen mas que unas simples sales álcalis? En quanto las podemos conocer; no lo son, sino un compuesto de diferentes substancias; y si por medio de experiencias químicas llegásemos à descubrir los principios de estas substancias ¿no podríamos facilitarnos en nuestro propio Pays estas cenizas à mejor precio, que el que nos cuestan las que nos vienen de los Reynos extranjeros?. Una indagación de esta naturaleza merece toda nuestra atención, y si se acierta con ella, no puede menos de ser de la mayor importancia para este Reyno; pues la Gran Bretaña, y la Irlanda gastan todos los años, según se me ha asegurado, trescientas mil Libras Sterlinas en cenizas (27 Millones de reales de vellón, contando la Libra Sterlina por 90 reales de dicha moneda). Es difícil determinar hasta donde puede llegar a subir el precio de esta mercadería; y aún es imposible estar asegurados de que podrá conseguirse à cualquier precio, pues ahora ha tres años (1752) que habiéndola acopiado toda enteramente dos

Comerciantes Holandeses nos la revendieron por menos à dos, y aún à tres tantos mas de su precio. Nuestras Manufacturas no hubieran podido subsistir durante la ultima guerra con la España, si la extracción de su potassa (habla de nuestra Barrilla de Alicante) no hubiera sido permitida por orden del Rey, y de su Consejo. El provecho, y la necesidad concurren à reanimar nuestra industria.”

En la parte tercera de la obra, sección primera, de las cenizas de perlas azules, Home (12, pp. 107-108) pone en alza la química al sostener que el dominio de un oficio requiere conocer lo que uno se trae entre manos, su naturaleza, destacando el papel del análisis a este respecto, al posibilitar el cálculo de la composición su preparación, con el ahorro que ello supondría, al evitar la dependencia del extranjero, tema en el que insiste

“141. Las sales ò cenizas son los principales agentes que emplea el Blanqueador; y así, merecen por consiguiente toda nuestra atención. Tendríase por ignorante à un Medico que no entendiese la composición de los remedios que receta; y en este supuesto ¿por qué ha de haber mas indulgencia para un Blanqueador que no tenga conocimiento alguno de los agentes de que se vale para sus operaciones?. Sin embargo, puede perdonárseles su ignorancia, porque por muy hábiles que sean en su Arte, de ningún modo podrán analizar estas cenizas, y las partes que las constituyen. Para este conocimiento es necesario que recurran à la Química, porque esta por medio de disoluciones, y de evaporaciones lentas le presentará las partes que componen naturalmente los cuerpos: que el fuego químico no puede por su fuerza dexar de alterar estas partes, y que un calor tan moderado como el del Sol en el verano, no las hace el menor daño.

142. Descubriéndonos esta analysis las partes constituyentes de las sales de que se trata, nos enseñará el verdadero modo de componerlas, y de manufacturarlas entre nosotros; y haciendo que nos salgan mas baratas, nos libertará de la especie de sujeción en que nos tienen los Reynos extrangeros por una mercadería absolutamente

necesaria a nuestras Manufacturas. A esta ventaja se seguirá la de conocer que las cenizas de un mismo nombre, de quienes se hace uso para las legías, se diferencian mucho entre sí por su fuerza o actividad. Semejante analysis instruirá al Blanqueador en el modo de examinarlas, y de descubrir la cantidad de sales que contienen: le enseñará su justo valor, y el uso que debe hacer de ellas; y le indicará el camino que debe tomar para descubrir las propiedades de otra cualquiera sal nueva.”

Francis Home (12, pp. 109-110) idea un método acidimétrico para la determinación de álcali en cenizas vegetales

“145. Resuelto a descubrir el efecto que los ácidos harían en estas cenizas, y la cantidad de ellas que destruirían, à fin de poder formar juicio de la cantidad, y fuerza de la sal que contenían, tomé un dracma de cenizas azules, y eché sobre ellas una mezcla compuesta por seis partes de agua, y una de nitro, à la cual doy el nombre de *mezcla ácida*. Hizo efervescencia, y aguantó hasta doce cucharaditas de dicha mezcla echadas con una cuchara de las que sirven para tomar el the. A cada cucharada de la mezcla accida era violenta la efervescencia, pero no duraba por mucho tiempo. Después se precipitó un polvo vermejo, y quando ya estubo bien saturado, encontré que tenía un sabor nitroso.

146. Conviene advertir aquí que esta experiencia no dá à conocer de un modo decisivo la proporción o fuerza de las sales álcalis que contienen estas cenizas; porque además de las sales álcalis, hay también otros cuerpos que hacen efervescencia con los accidos, como son las tierras absorbentes, las calcáreas, y la cal viva. Esta experiencia no puede concluir hasta estar asegurados de que no se halla cuerpo alguno de estos en las cenizas; y esta seguridad no podemos tenerla hasta haber hecho los ensayos à propósito para descubrir si los contiene o no.”

y otro en el que determina la dureza del agua por valoración con carbonato sódico (12, pp. 325-326) hasta el punto claro o cese de la precipitación

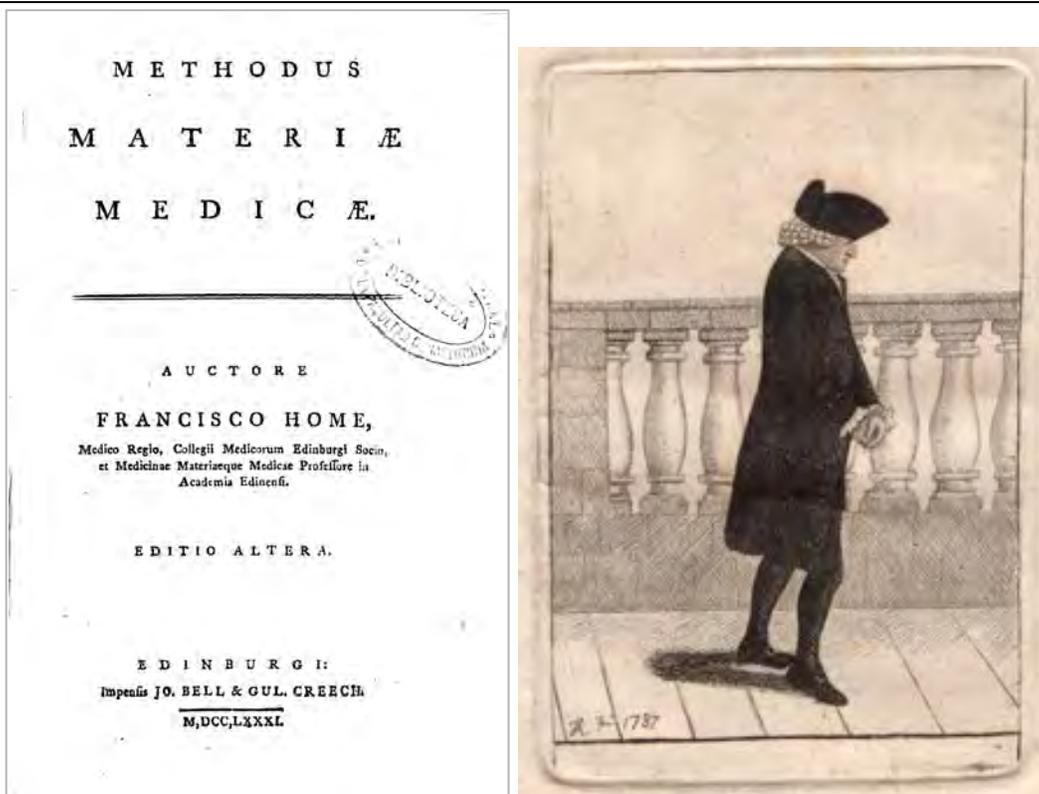


Figura 3. Izquierda: “Methodus Materiae Medicae” de Francis Home, edición de 1781. Derecha: Francis Home, por John Kay (3 ¼ in. x 2 ¼ in. (82 mm x 56 mm) tamaño de placa: 6 7/8 in. x 5 1/8 in. (176 mm x 130 mm) tamaño de papel. National Portrait Gallery, referencia de la colección NPG D18647.

“442. Como las diferentes sales álcalis se diferencian en fuerza , y hay también aguas duras que lo son unas mas que otras , y que una misma agua se halla mas dura en un tiempo seco que quando llueve, por eso es necesario tener una regla general segura, y fácil para endulzar todas las aguas duras; y para ello me parece esta la mejor. Disuélvase una cierta cantidad de sal alkali en una cantidad determinada de agua dulce: échese en una porción señalada de agua dura la disolución de sal, pero poco á poco mientras tanto que el color lechoso se aumenta; y en hallándose este licor en su mas alto período,

déxese reposar el agua hasta que se clarifique. Ensáyese luego esta agua clarificada, echándola algunas gotas de la referida disolución ; y si en este caso no se vé color blanco alguno en ella, es señal de que yá está dulce pero sí se percibe algún nubarroncillo, prosígase echando la disolución gota á gota hasta que no se vea semejante señal. Por este medio se conoce la cantidad de sales que es necesaria para endulzar cierta cantidad de agua, y consiguientemente la que se necesita para otra qualquiera cantidad.”

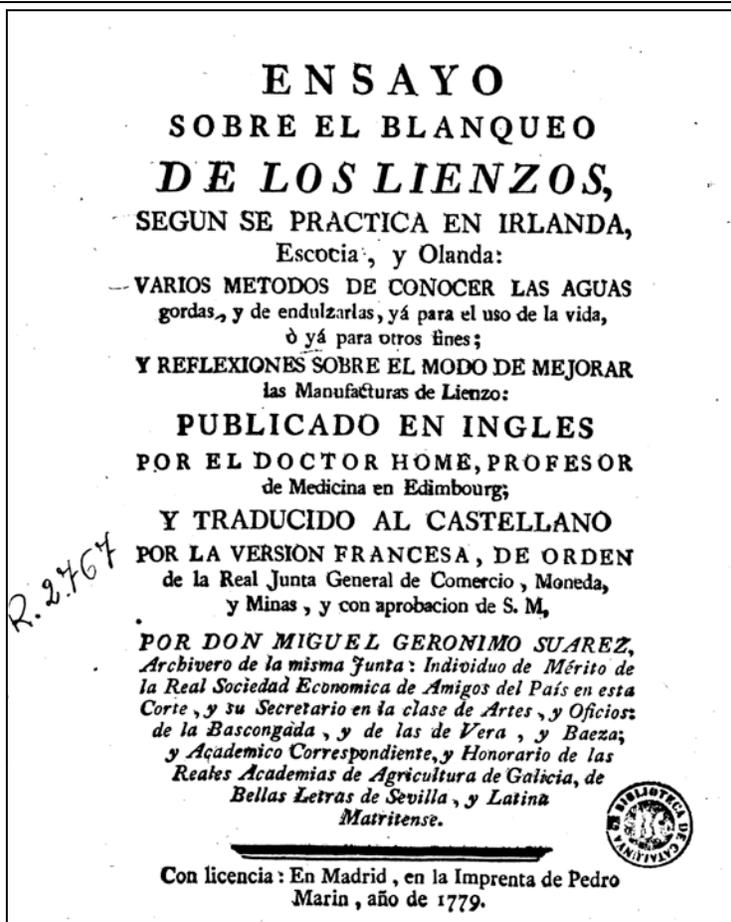


Figura 4. Portada de la traducción española de “Experiments on Bleaching” de Francis Home (12).

Home advertía, sin embargo, que la medida implicada en el método acidimétrico puesto a punto no era del todo cierta, ya que existen otros cuerpos junto a las sales alcalinas, que producen efervescencia con los ácidos. Sin embargo, es probable que la relativamente simple observación de Home de que el ácido sulfúrico permitía un rápido blanqueo afectara a la industria mas que cualquier otra ventaja aportada por los análisis químicos de los ya “empirically understood bucking solutions of alkaline simples” (22). El método de ensayar las sales alcalinas desarrollado por Home podían llevarlo a cabo fácilmente los “blanqueadores”.

Home recomienda constantemente la experimentación como medio más idóneo para mejorar las operaciones de blanqueo. En 1782 Guyton de Morveau en relación con este proceso (57-58) indicaba

“il fait surtout pouvoir arriver à cette connaissance par des moyens simples, expéditifs, qui en peu de jours deviennent une routine aveugle mais sur dans la main des ouvriers les moins intelligents.”

En los inicios de la revolución industrial, el descubrimiento y la amplia adopción en el comercio de avances tecnológicos cruciales hicieron factible un incremento sustancial de productividad en el acabado de fibras textiles marcando esto los comienzos de la industria química moderna en Europa (59, p. 143). En el transcurso del siglo XVIII, con la introducción del cloro, el blanqueo de fibras textiles se transformó de un oficio medieval a un proceso químico eficiente aún en uso en los primeros años del siglo XX (60).

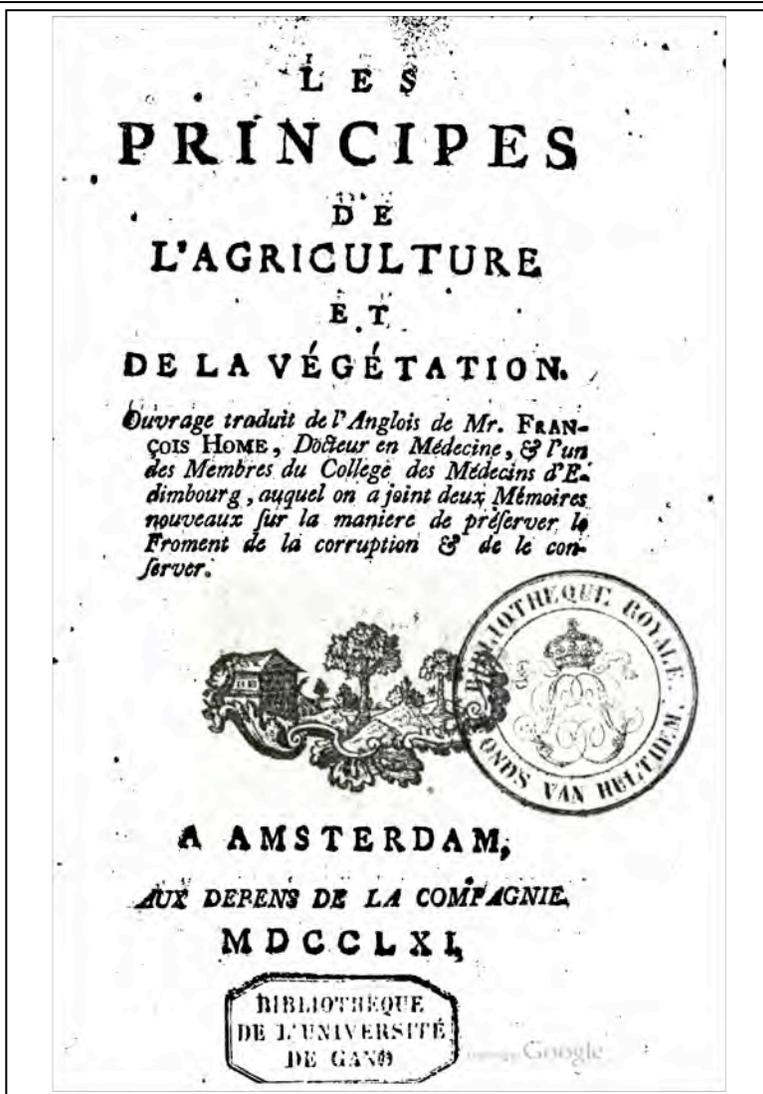


Figura 5. Portada de la traducción francesa de “Principles of Agriculture” de Francis Home (61).

6. LOS PRINCIPIOS DE LA AGRICULTURA Y DE LA VEGETACION

Francis Home pionero en la aplicación de los principios químicos a cuestiones de fertilización, utiliza el análisis químico como herramienta de trabajo, siendo el primero en notar (1757) que las plantas toman nutrientes del aire (61), hecho que recalca su traductor alemán J.C. Wöllmer (62), y que facilitó la comprensión del fenómeno de fotosíntesis unos veinte años más tarde. “Principles of Agriculture and Vegetative” alcanza tres ediciones en Londres: 1757, 1759, 1776; una en Dublín, 1759; una en Francia, 1761 (Figura 5, (63)); dos en Alemania, 1763 y 1769; y en (64) Italia, 1764 y 1775. Una edición francesa se publica en Berna en 1791. Home fue galardonado con la Medalla de Oro de la Sociedad de Edimburgo (40, p. 1014) para el “Fomento de las Artes, Ciencias, Manufactura y Agricultura”, a la mejor disertación presentada sobre los principios de la agricultura. Parece inconcebible que no exista constancia (49, 65) de una comunicación regular entre Home y Black dadas sus posiciones académicas paralelas (y miembros del Colegio de

Médicos durante 30 años).

Sus contribuciones a la agricultura, de gran estima tanto en el continente como en su país, le conducen más tarde al nombramiento como Primer Profesor de Agricultura en la Universidad de Edimburgo, hecho notable, ya que emprende esta labor cumplidos los 71 años (37). El mismo se declara un pionero que intenta introducir una nueva ciencia, i.e. química, a la asistencia de dicho arte, i.e. agricultura. Se retira a la edad de 79 años, sucediéndole su hijo James (1760-1844), quien produjo poco trabajo original (41), pero fue un gran profesor, que a la edad de 61 años aplicó con éxito a la cátedra de medicina que dejó vacante James Gregory.

7. WILLIAM LEWIS

William Lewis (1708-1781), estudia en las Universidades de Oxford y de Cambridge y se establece como consultor. Médico famoso, autor de obras científicas y químico experimental, imparte sobre 1730 conferencias públicas, en su laboratorio privado en New Street, Fetter Lane (Londres), sobre la química y la mejora de la

farmacia, comercio y artes manufacturadas (66-72). Es autor de una obra clásica en la que muestra como la química y la física puede aplicarse a problemas tecnológicos (73-74) (*Commercium Philosophico-Tecnicum*, Figura 6). Lewis se convierte en el autor farmacéutico británico más prominente del momento, siendo sus libros (*An Experimental History of the Materia Medica* (75), Figura 6...) utilizados por Cullen y Black en Edimburgo (67, p. 122).

No obstante, al margen de unas cuantas referencias dispersas en la literatura farmacéutica, es difícil encontrar referencias de Lewis (76)(69, p. 64) en historias de las ciencias. Kremers (1931) ha publicado (77) una biografía útil. Thomson (78, p. 265) lo cita en relación con la traducción de “*The Chemical Works of Caspar Neumann*”, obra que contenía la teoría del flogisto de George Ernst Stahl. En una época en la que los químicos ingleses estaban influenciados por el punto de vista mecanicista de

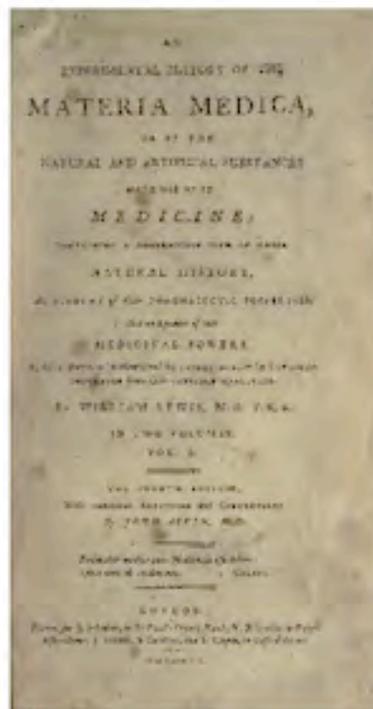
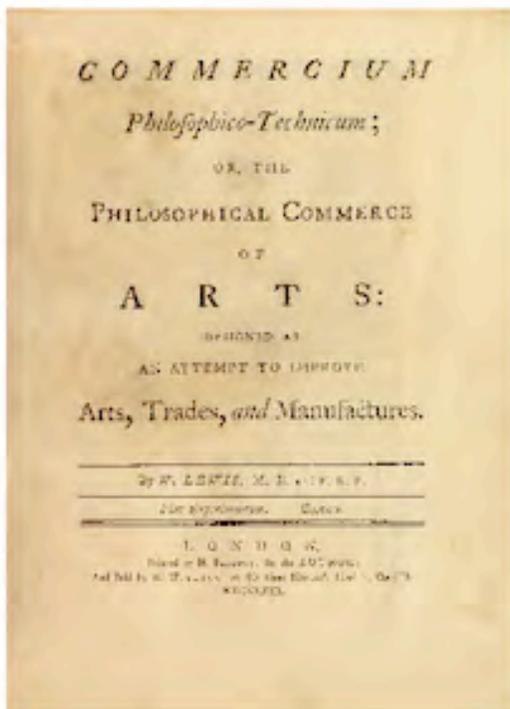


Figura 6. Parte superior: grabado debido a P.C. Canot que representa un laboratorio químico: *Commercium Philosophico-Tecnicum*, Vol I, London, 1765. Parte inferior izquierda: *Commercium Philosophico-Tecnicum*, Vol I, London, 1765, de William Lewis (Robert E. Gross Colection, University of California, Los Angeles). Parte inferior derecha: *Materia Médica* de William Lewis, volumen primero, cuarta edición, 1791.

Newton, Lewis sostiene claramente que la Química es una ciencia distintiva (79, p. 763). Recibe la medalla Copley de la Royal Society en 1754 por sus investigaciones sobre la platina (80-82) (estudios y métodos de análisis de aleaciones de oro y platino).

A este respecto Hoefér en 1869, comenta (83, II, pp 360-361)

« Parmi les chimistes, membres de la Société royale de Londres, qui, dans la première moitié du dix-huitième siècle, se sont fait remarquer par leur travaux, il faut citer au premier range Lewis. On lui doit one dissertation très étendue sur le platine, métal alors tou nouveau. Le nom de platine vient de l'espagnol plata, argent, dont le diminutif est platina, petit argent. Le platine, d'abord, connu sous le nom d'or blanc... »

El platino es descubierto por el sevillano Antonio de Ulloa en las aguas del rio Pinto en el Chocó, Colombia, según relata en su obra *Relación histórica del viaje a la America Meridional*, que publica con (84, Parte 1ª, Tomo II, Libro VI, Cap. X, p. 606) Jorge Juan en 1748

“En el Partido del *Chocó*, haviendo muchas Minas de

Lavadero, como las que se acaban de explicar, se encuentran también algunas, donde por estar disfrazado, y envuelto el Oro con otros Cuerpos Metálicos, Jugos y Piedras, necesita para su beneficio del auxilio del Azogue; y tal vez se hallan Minerales, donde la *Platina* (Piedra de tanta resistencia, que no es fácil romperla, ni desmenuzarla con la fuerza del golpe sobre el Yunque de Acero) es causa de que le abandonen; porque ni la calcinación la vence, ni hay arbitrario para extraer el Metal, que encierra, sino a expensas de mucho trabajo, y costo. También se encuentran entre ellas Minas algunas donde hay mezclado con el Oro el Metal de *Tumbaga* tan fina, y con las mismas propiedades, que la del *Oriente*; siendo la mas singular en ella, el no criar Verdín, ni extraerse por medio de los Ácidos, como sucede con el *Cobre* ordinario.”

Según reconoce Cullen, Lewis es el primer autor ingles que publica una tabla de afinidades, lo que hace en 1753, en su “*New Dispensary*” (Figura 7) (69, p. 67; 85). Lewis demuestra a lo largo de su vida que la aplicación del conocimiento científico a problemas industriales podía originar grandes beneficios.

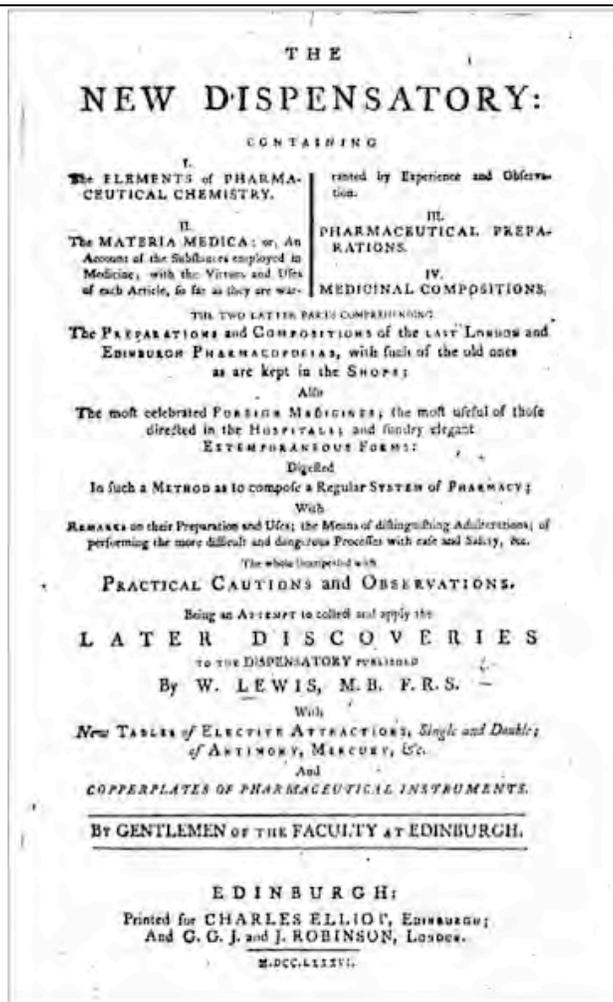


Figura 7. The New Dispensatory de William Lewis (Museo Británico).

En la introducción del “New Dispensary” Lewis procede (85) a la definición y división de la farmacia, destacando en primer lugar sus conexiones con la química y haciendo una distinción posterior entre teórica y práctica, distinguiendo el resultado directo de la observación y experimentación, de la labor manual:

“...pharmacy, in its full extent, is no other than a branch of chemistry; and the most simple pharmaceutical preparations are so far chemical, as they have any dependence upon the properties or relations of the materials.

Pharmacy, according to our definition, may be divided into THEORETICAL, and PRACTICAL. The former teaches the knowledge of the medicinal substances themselves, their various properties, qualities, and relations to one another, and their general effects on the human body: the latter, the skilful performance of the several processes or operations by which they are adapted to particular uses.

What is here, called *theory*, is not to be understood as consisting of speculative truths, or philosophical investigations, calculated for explaining the phenomena, or teaching the rationale of the effects produced. The theory of pharmacy is the direct result of experiment and observation, or rather a general and

comprehensive view of experiments and facts themselves; it may be termed Scientific Pharmacy, in distinction from mere manual labour”.

8. WILLIAM LEWIS Y LAS POTASAS AMERICANAS

La tala indiscriminada de los boques repercute en la escasez de madera y de sus cenizas, en la Inglaterra de 1600, fuente en aquella época de la potasa usada para la manufactura del jabón, vidrio y otras materias (86-87). La obtención de madera y derivados (para uso naval) se convierte por tanto en un asunto de urgente necesidad. De ahí que la manufactura de la potasa llegara a ser una de las industrias coloniales (88-89) más florecientes. Era por tanto necesario recabar información concerniente a la calidad mínima aceptable del producto y al método de determinación, con objeto de evitar acciones fraudulentas.

Lewis recibe (90) para informe, de “The Society for Encouragements of Arts, Manufactures and Commerce”, de la que era miembro (de su Comité de Química), al igual que Robert Dossie, ocho muestras de potasas americanas (Figura 8). En la primera parte del trabajo sobre los álcalis del comercio publicado (91-92) por Descroizilles (1806, 1807) (Figura 9), éste se detiene al comienzo en describir las potasas americanas:

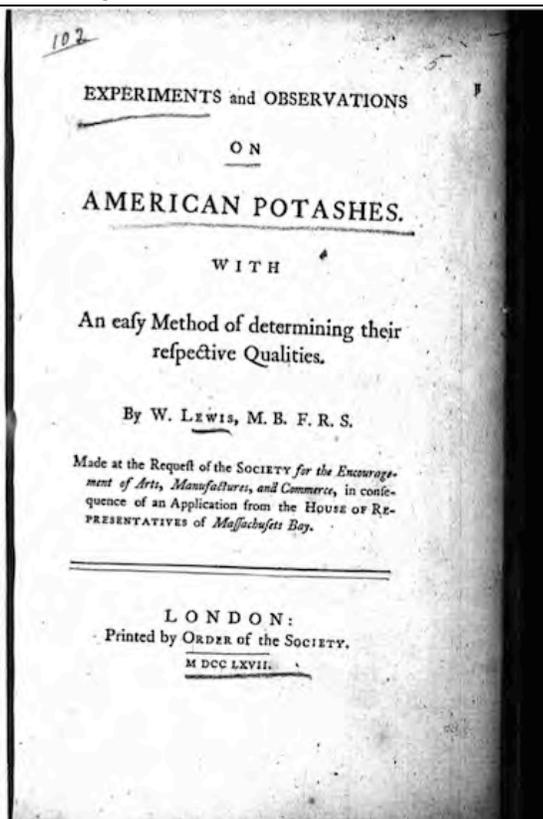


Figura 8. Fotocopia de la portada del folleto de 34 páginas sobre las potasas americanas, de William Lewis. Obtenido a través de la “National Library of Australia” (82).

“On donne le nom de *potasse d’Amérique* à une substance alcaline, en masses compactes, qi ont

visiblement éprouvé la fusion. Cet alcali paroît être le produit d’une lessive de cendres et de chaux, avec addition

de sel marin. Il en résulte une matière très déliquescente, caustique, susceptible d'entrer en fusion, long-temps avant d'être rougie par le feu. Si les proportions de sel marin et de chaux on été suffisantes, toute la potasse s'est combinée

avec l'acide de celui-ci, et a mis à part la soude en même temps que la chaux s'est précipitée en carbonate; ainsi cette espèce d'alcali doit être considérée comme un mélange de soude caustique et de muriate de potasse...".



Figura 9. Primera página de la primera parte de las “Notices sur les alcalis du commerce”, publicado por Descroizilles en los *Annales de Chimie et de Physique* (91).

Las muestras recibidas por William Lewis eran todas oscuras, algunas casi negra y otras rojizas, encontrándolas menos blanquecinas, friables y solubles que otras previas de la misma procedencia, que había analizado por encargo (90, p. 1).

“The eight sorts of Potashes sent to me by the Society are all of a dark colour, some almost black; some have a reddish cast, and other appear on breaking of a cherry or rose red, which soon changes to a dusky hue on being exposed to the air.

They are all compact, hard, and slow of solution: though they soon liquefy on the surface, they do not really dissolve, even by boiling in water, unless reduced to powder.-Some other sorts of Potashes from *America*, which were sent to me for examination about a twelvemonth ago by persons concerned in the trade, are much whiter, more friable, and easier of solution.”

Tras disolución y filtración halla que la mayor parte de las muestras contiene solo 5 partes en 6 de materia soluble. Las muestras purificadas se redisuelven y dejan en reposo para que cristalicen, formándose variadas cantidades de sal (método que abandona por lento y tedioso) (90, p. 4).

“but the perfect separation of these foreign salts by crystallization, either from the alkali or from one another,

specially when the process is performed with small quantities of the matter, was found so difficult and tedious, that the enquiry was dropt, and another examination tried.”

A continuación calcula la cantidad de álcali en las muestras por el poder de neutralizar ácidos, en comparación con un álcali de pureza conocida, método que va tan bien que es propuesto para el ensayo de las potasas (90, p. 4)

“Having extracted the whole of the saline matter from the several Potashes, it was judged that the quantity of true alkali in the salts might be discovered by their powder of saturating acids, compared with that of an alkali of known purity; and this method succeeded so well, that is hereafter proposed for the assaying of Potashes, and the manner of procedure described at large.”

Sus comentarios de como hacer los análisis suministran interesantes detalles prácticos (60, 62, 65, 85-86). La cantidad de ácido necesario debe determinarse “no por gotas o cucharaditas de te, sino por pesada” (idea una bureta de pesada). El punto de saturación no viene marcado por el cese de efervescencia, muy difícil de observar, y de calcular con una exactitud conveniente. Se determina recurriendo a algún efecto menos ambiguo y más acentuado, tal como el cambio de color producido en algunos jugos vegetales, o en papel impregnado con ellos

(tornasol) (90, pp 28-29)

“The quantity of acids, necessary for the saturation of lye, should be determined, not by drops or tea-spoonfuls, but by weight; and the point of saturation, not by the ceasing of the effervescence, which it is extremely difficult, if not impracticable, to hit with tolerable exactness, but by some effect less ambiguous and more strongly marked, such as the change of colour produced in certain vegetable juices, or on paper stained with them.

The finer sort of purplish blue paper used for wrapping sugar in, answers sufficiently well for this purpose; its colour being changed red by slight acids, and afterwards blue or purple again by slight alcalies. What I have chiefly made use of, and found very convenient, is a thick writing paper stained blue on one side with an infusion of lacmus or blue archil, and red on the other by a mixture of the

same infusion with so much dilute spirit of salt as insufficient just to redden it...”

El ácido se normaliza frente a carbonato potásico puro (salt of tartar) (90, p. 30)

“Pour gradually some of the acid from the vial into de solution of salt of tartar, so long as it continues to raise a strong effervescence; then pour or drop in the acid very cautiously and after every small addition, stir the mixture well with a glass cane, and examine it with the stained papers. So long as it turns the red side of the paper blue, more acid is wanted: if it turns the blue side red, the acid has been overdosed.”

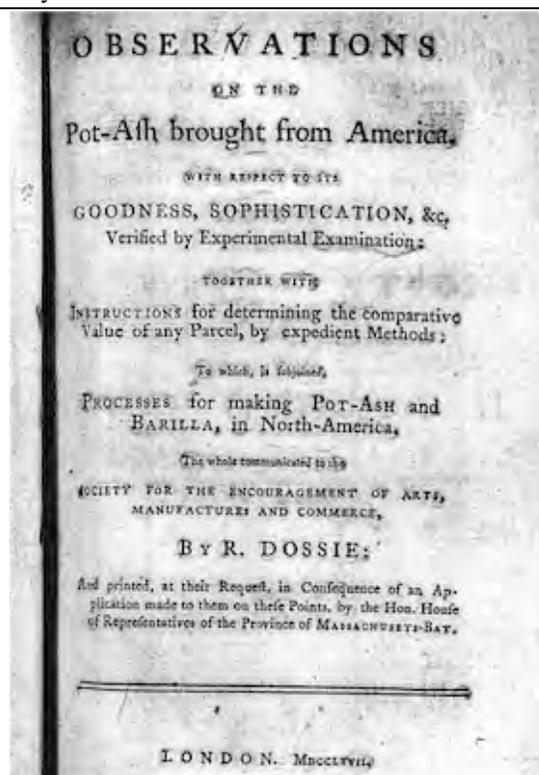


Figura 10. Fotocopia de la portada del folleto de 41 páginas escrito por Robert Dossie sobre las potasas americanas (87). Obtenido de la “National Library” of Australia.

El porcentaje de impurezas en las muestras variaba del 7 al 40 %, con una media del 20 %. Lewis pone a punto también métodos de ensayos hidrostáticos e idea un instrumento, combinación de los de Clarke y Fahrenheit, precursor del higrómetro de Nicholson. Lewis, recomienda también, dato importante, realizar las medidas a una temperatura determinada.

En 1767 “for his accurate and ingenious Account of the making and annalization of Pot-Ash”, Lewis recibe la Medalla de Oro de la Sociedad anteriormente mencionada. El estudio realizado sobre las potasas americanas se publica ese mismo año en un breve folleto de treinta y cuatro páginas, describiéndose los procedimientos analíticos en las últimas cuatro (90). El informe de Lewis fue usado

como estándar analítico de trabajo hasta el siglo XX, y constituye un claro ejemplo de la futura alianza entre la ciencia y la industria (93).

Robert Dossie, hijo de un boticario, refleja las largas y mutuas conexiones establecidas entre la química y la farmacia, que existían, no solo en las Universidades, sino también en el mercado de las ciudades. Al parecer, Dossie fue aprendiz de boticario y ganado para la causa de la química y la física mientras atendía uno de los muchos cursos (68) sobre experimentación que abundaban en esa centuria. Ambos Dossie y Lewis fueron encargados con la responsabilidad de examinar los métodos entonces empleados en el ensayo de la potasa americana (Figs. 8 y 10 (95)), mostrando el trabajo de Lewis un nivel más

elevado de sofisticación química.

Se distribuyeron copias del folleto de Lewis por las Colonias, y sorprende el hecho de que sus logros no se valoraran más allá de la “Society of Arts” (90, p. 70), por lo que su trabajo pasó desapercibido (57, p. 55) y no tuvo influencia en el desarrollo del análisis

“It is strange that the analytical part of this treatise was not at all understood by Lewis’s contemporaries, and that the treatise does not seem to have left any mark in the development of analysis.”

9. COMENTARIOS FINALES

El lenguaje retórico de la química ejerce un papel fundamental como soporte de la química en la Sociedad, contribuyendo a hacer valer sus métodos y procedimientos y a reforzar su imagen pública. La industria demanda productos químicos, naturales o sintéticos cuya calidad se precisa controlar, correspondiendo al análisis favorecer la investigación teórica y prestar un servicio, aportando datos acerca de su composición. Los actores farmacéuticos, en este caso Francis Home y William Lewis, contextualizan y comunican el conocimiento químico de la época, a los problemas industriales.

Berthollet (96-97) utiliza el mismo lenguaje retórico que Home, al que cita (97, XLV), para hacer valer la química y reforzar su imagen pública

“En estos últimos tiempos la Química ha hecho tantos progresos, que muchas artes se han acogido á sus banderas, y su conocimiento es de la mayor utilidad á los sujetos que las practican; pero para el del blanqueo se necesita indispensablemente a un Artista á quien no sea desconocida esta Ciencia” (96, pp 1-2)

“A los artistas presento los principios de Chímica que deben servirles para explicar los fenómenos del Arte de teñir, ó por mejor decir, he procurado darles á entender quan importante les es el conocimiento de las nociones de la Chímica: he fixado su atención en objetos que tienen conexiones inmediatas con su arte: les he trazado un bosquejo de las operaciones que se emplean en las preparaciones de las sustancias de que hacen uso, á fin de obligarlos a ponerse en estado de executar por si mismos aquellos de que necesiten, siempre que lo hallen ventajoso, y darles una noción exacta de la naturaleza y propiedades de estas sustancias...” (97, p. XLVIII).”

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo. Bleaching. En Hugh C, Ed. Encyclopaedia Britannica or Dictionnary of Arts, Sciences and General Literature, 8th edition. Edinburgh: Adam and Charles Black 1854: pp. 757-71.
2. Fors H. Mutual Favours, The Social and Scientific Practice of Eighteenth-Century Swedish Chemistry. PhD Thesis. Uppsala: Uppsala University 2003.
3. Scheele CW, Berthollet CL, de Mourveau G, Gay Lussac JL, Thenard LJ. The early history of chlorine. Alembic Club Reprints No 13. Edinburgh: William Clay 1897.
4. Berthollet. Memoire sur l’acide marin déphlogistiqué.

Histoire de l’Académie Royale des Sciences 1785 (publicado en 1788): pp. 331-49.

5. Davy H. Elementary nature of chlorine, Papers by Humphry Davy 1810-1818. Edinburgh: Alembic Club, William Clay 1902.
6. Nieto-Galan A. Industria textil e historia de la tecnología: las indianas europeas de la primera mitad del siglo XIX. Rev Hist Ind 1996; 9: 11-37.
7. Nieto-Galan A. Colouring Textiles. A History of Natural Dyestuffs in Industrial Europe. Berlin: Springer 2001.
8. Davis FV. Bleaching: an introductory paper. J Textile Inst Proceed 1962; 53 (4): P281-7.
9. Durie AJ. Textile bleaching: a note on the Scottish experience. Bus Hist Rev 1975; 49(3): 337-45.
10. Park JH, Glouberman E. The importance of chemical developments in the textile industries during the industrial revolution. J Chem Educ 1932; 9: 1143-70.
11. Edelstein SM. The role of chemistry in the development of dyeing and bleaching. J Chem Educ 1948; 25 (3): 144-9.
12. Home F. Ensayo sobre el blanqueo de los lienzos, según se practica en Irlanda, Escocia, y Olanda. Madrid: Imprenta de Pedro Marín 1779.
13. Sala L. La competencia terminológica: causas lingüísticas en el auge del término sosa y el declive de barrilla en los siglos XVIII y XIX. Asclepio 2003; 55(2): 67-92.
14. Josset P. Emplois thérapeutiques du natron dans l’Egypte antique et le monde gréco-romain. Rev Hist Pharm 1996; 84(311): 385-96.
15. Sapsford M. The Use of Sodium Salt Deposits in Medical and Medically Associated Industries in Ancient Egypt. PhD Thesis. Cranfield: Cranfield Universtiy 2009.
16. Gillispie CC. The discovery of the Leblanc Process. Isis 1957; 48: 152-70.
17. Sáez-Plaza P, Martín J, Asuero AG. La barrilla y la sosa sintética. Memorias de la Real Academia Sevillana de Ciencias 2018; aceptado.
18. Anónimo. Description de Divers Procédés pour Extraire la Soude du Sel Marin. Comité de Salut Public 1794.
19. Avendaño López C. El Poder de la Química: como se transforma la información a nivel molecular en fármacos innovadores. Madrid: Instituto de España 2003.
20. Fernandez Perez J. From the Barrilla to the Solway factory in Torrelavega: the manufacture of saltwort in Spain. Antilia 1998; 4: 1.
21. Kirwan R. Experiments on the alkaline substances used in bleaching, and on the colouring-matter of line-yarn. Trans Royal Irish Acad 1789; 3: 3-47.
22. Kirwan R. Sur les substances alcalines, employées pour le blanchiment des Toiles, et sur la nature de la matière colorante du Fil de lin. Ann Chim 1793; 18: 163-220.
23. Lelièvre P, d’Arcet G. Rapport sur les divers moyens

- d'extraire avec avantage le sel de soude du sel marin. *Ann Chim Phys* 1797; 19: 58-156.
24. Reilly D. Salts, Acids & Alkalis in the 19th Century. A comparison between advances in France, England & Germany. *Isis* 1951; 42 (4): 287-96.
 25. Browne CA. Historical notes upon the domestic potash industry in early colonial and later times. *J Chem Educ* 1926; 3: 749-56.
 26. Weeks ME, Leicester HM. *The Discovery of Elements*. S. Francisco 1967, p. 438.
 27. Clow A, Clow NL. *The Chemical Revolution. A contribution to Social Technology*, Batchworth Press. London: Gordon & Breach Publishers 1992.
 28. Tennant C. A table showing the quantity of soda (either free or combined with sulphur or carbonic acid) contained in the specimen under trial with sulphuric acid containing 10 per cent real acid. If the specimen under trial consist of 100 grains, the Table of course shows the per Centage of Alkali. *Ann Phil* 1817; 10: 114-5.
 29. Baldwin RT. History of the chlorine industry. *J Chem Educ* 1927; 4 (3): 313-9.
 30. Baldwin RT. Uses of chlorine. *J Chem Educ* 1927; 4 (4): 454-9.
 31. Barker TC, Dickinson R, Hardie WF. The origins of the synthetic alkali industry in Britain. *Economica* 1956; 23 (90): 158-71.
 32. Campbell WA. Analytical chemistry of the Leblanc Soda trade. *Anal Proceed* 1978; 15: 208-10.
 33. Christie JRR. The origins and development of the Scottish scientific community 1680-1760. *Hist Sci* 1974; 12: 122-41.
 34. Golinski J. *Science as Public Culture Chemistry and Enlightenment in Britain, 1760-1820*. Cambridge: Cambridge University Press 1999; p.11.
 35. Thomson T. *History of Chemistry*. London: Colburn & Bentley 1830.
 36. Pintura del Profesor Francis Home (1719-1813), por David Allan (atribuido). Oleo sobre lienzo (71x55 cm). The University of Edinburgh Fine Art Collection. Disponible en: <http://www.bbc.co.uk/arts/yourpaintings/paintings/professor-francis-home-17191813-93997>
 37. Enders JF. Francis Home and his experimental approach to medicine. *Bull Hist Med* 1964; 38(2): 101-12.
 38. Francis Home, Royal College of Physicians of Edinburgh. Disponible en: <https://www.rcpe.ac.uk/heritage/college-history/francis-home>
 39. Kelly JS, Mackay VP. The enduring legacy of 250 years of pharmacology in Edinburgh. *Ann Rev Pharm Toxicol* 2018; 58: 4.1-15.
 40. Home WE. Francis Home (1719-1813), first Professor of *Materia Medica* in Edinburgh. *Proceed Royal Soc Med* 1928; 21(6): 1013-5.
 41. Gaddum JH. The pharmacologists of Edinburgh. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1962; 2: 1-10.
 42. The University of Edinburgh, Chairs of *Materia Medica* (1738-2014). Disponible en: <https://www.ed.ac.uk/unpublished/biomedical-sciences/pharmacology-edinburgh1/history-section/chairs-of-materia-medica-timeline>
 43. Kay J. *A Series of Original Portraits and Caricature Etchings, with Biographical Sketches and Illustrative Anecdotes*. Vol. I, Part II. Edinburgh: Hugh Paton, Carver and Gilder 1838; pp. 249-52.
 44. Emerson RL. *Academic Patronage in the Scottish Enlightenment* Glasgow, Edinburgh and St. Andrews Universities. Edinburgh: Edinburgh University Press 2008.
 45. Bell JO, *Gul. Methodus Materiae Medicae*. Edinburg: Greech 1781.
 46. Home F. *Experiments on Bleaching*, printed by Sands, Donaldson Murray and Cochran for A. 2nd ed. Edinburg: Kincaid & A. Donaldson 1756; Dublin 1771.
 47. Anónimo. *Experiments on Bleaching*, by Francis Home, M.D. Fellow of the Royal College of Physicians in Edinburgh. Printed at Edinburgh for Kincaid and C^o, and sold in London by Millant. *Month Rev Lit J* 1756; 14: 428-34.
 48. Page FG. Francis Home and Joseph Black: the chemistry and testing of alkaline salts in the early bleaching and alkaline trade. *Bull Hist Chem* 2002; 27: 107-13.
 49. Page FG. *Chemical and Analytical Aspects of the Early Alkali and Bleaching Industries in Britain*. PhD Thesis. Leicester: University of Leicester 1999.
 50. Home F. *Essai sur le blanchiment de Toiles*. Traduit de l'Anglois de M. Home. Paris: Chez Ganeau 1762.
 51. Home F. *Versuche im Bleichen* (after the French translation). 1777.
 52. *Memorias de la Real Academia Médica de Madrid*. Tomo Primero. Madrid: Imprenta Real 1797.
 53. Home F. *Experiments on Bleaching*, printed by Sands, Donaldson Murray and Cochran for A. 2nd ed. Edinburg: Kincaid & A. Donaldson 1756; Dublin 1771.
 54. Ferguson J. An experimental assay on the use of leys and sours in bleaching. En Edwing T, Ed. Francis Home, *Experiments on Bleaching*. Dublin: Capel-Street 1771; pp. 215-63.
 55. Black J. An explanation of the effect of lime upon alkaline salts, and a method pointed out whereby it may be used with safety and advantage in Bleaching. En Edwing T, Ed. Francis Home, *Experiment on Bleaching*. Dublin: Capel-Street 1771.
 56. MacBride D. An abstracts of the foreign essays containing practical rules and directions for the preparation and use of particular sours and leys in bleaching. En Edwing T, Ed. Francis Home, *Experiments on Bleaching*. Dublin: Capel-Street 1771; pp. 283-95.
 57. Rancke Madsen E. *The Development of Titrimetry Analysis till 1806*. Copenhagen: Gad Publishers 1958.

58. Donnelly J. Consultants, managers, testing slaves: changing roles for the chemists in the British alkali industry, 1850-1920. *Technol Cult* 1994; 35 (1): 100-28.
59. Wolff KH. Textile bleaching and the birth of the chemical industry. *Bus Hist Rev* 1974; 48(2): 143-63.
60. Gittins L. Innovations in textile bleaching in Britain in the Eighteenth Century. *Bus Hist Rev* 1979; 53: 194-204.
61. Home F. *Principles of Agriculture and Vegetation*. Hamilton G, Balfour J, Ed. 1757, 1759, 1762, 1776.
62. Home F. *Grundsätze des Ackerbaues und des Wachstums der Pflanzen, aus dem Englischen übersetzt und mit Anmerkungen begleitet von J. C. Wöllner, etc*, 1779.
63. Home F. *Les Principes de L'Agriculture et de la Vegetation*. Amsterdam 1761.
64. Home F. *I Principi dell'agricoltura e della vegetazione*. Presso Giacomo Caroboli e Domenico Pompeati 1764, 1775.
65. Page FG. Lime in the early bleaching industry of Britain 1633-1828: its prohibition and repeal. *Ann Sci* 2003; 60: 185-200.
66. Anon. Lewis (William). En *The Georgian Era, Memoirs of the most eminent persons, who have flourished in Great Britain*. Vol III. London: Vizately, Branston and Co 1834.
67. Gibbs FG. William Lewis MB. F.R.S. (1708-1781). *Ann Sci* 1952; 8 (2): 122-51.
68. Stewart L. Experimental spaces and the knowledge economy. *History Sci* 2007; 45: 155-77.
69. Sivin N. William Lewis (1708-1801) as a chemist. *Chymia* 1962; 8: 63-88.
70. Stewart L. Assistants to enlightenment: William Lewis, Alexander Chisholm and invisible technicians in the industrial revolution. *Notes Rec Royal Soc* 2008; 62: 17-29.
71. Stewart L. The laboratory, the workshop, and the theatre of experiment. En Bensaude-Vincent B, Blondel C, Eds. *Science and Spectacle in the European Enlightenment*. Ashgate: Aldershor 2008; Chapter 1, pp. 1-24.
72. Wisniak J. William Lewis. *Revista CENIC Ciencias Químicas* 2014; 45: 160-8.
73. Lewis W. *Commercium Philosophico-Technicum; or the Philosophical Commerce of Arts designed as an attempt to improve Arts, Trades, and Manufactures*. Baldwin H Ed. London 1763.
74. Gibbs FG. Bicentenary of the *Commercium Philosophico-Technicum*. *Platinum Metals Rev* 1963; 7(2): 66-9.
75. Lewis W. *An Experimental History of the Materia Medica or of the natural and artificial substances made use of in Medicine*. Johnson J, Baldwin R, Sewell J, Hayes S, Eds. Vol. I, 4th edición, 1791.
76. Kremers E, Urdang G. *History of Pharmacy*. Pa JB Ed. Lippincott 1951.
77. Kremers E. William Lewis. *J Am Pharm Assoc* 1931; 20: 1204-9.
78. Thompson T. *History of Chemistry*. Colburn H and Bentley R, Ed. Vol. I, 1860; p. 265.
79. Partington, J.R. *History of Chemistry*. Tome III, St Martin's Press 1970; pp. 762-4.
80. Lewis W. Experimental examination of a white metallic substance said to be found in the gold mines of the Spanish West Indies and these known by the appellation of Platina, Platina di Pinto, Juan Blanca. *Philos Trans* 1754; 48: 638-45; 645-69; 669-75; 676-89.
81. Lewis W. Examination of platina. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 1757; 50: 148-66.
82. Hunt LB. William Lewis on Gold. The first methodical account of its chemical and physical properties. *Gold Bull* 1981; 14(1): 36-40.
83. Hoefer F. *Histoire de la Chimie*. 2nd ed., Paris 1869; Tome II, p. 360-1.
84. Jorge Juan, *Relación histórica del viaje a la America Meridional*. 1748 Parte 1a, Tomo II, Libro VI, Cap. X, p. 606.
85. Lewis W. *The New Dispensary*. Elliot C and Robinson GGJ Eds. Edinburgh and London 1786.
86. Greiling W. *La Química Conquista el Mundo*. Barcelona: Manuel Marín 1942.
87. Mitchell J. An account of the preparation and uses of the various kinds of pot-ash. *Phil Trans* 1750; 10: 766-88.
88. Roberts III WI. American potash manufacture before the American Revolution. *Proc Am Phil Soc* 1971; 116 (5): 383-95.
89. Miller H. Potash from wood ashes: frontier technology in Canada and the United States. *Technol Cult* 1980; 21(2): 187-208.
90. Lewis W. Experiments and observations on American potashes with an easy method of determining their respective qualities; made at the request of the Society for the encouragement of Arts, manufactures and Commerce, in consequence of an application from the House of Representatives of Massachusetts Bay. London: Royal Society of Arts 1967.
91. Descroizilles aîné, *Notices sur les alcalis du commerce* (Lue dans la séance du 5 thermidor au 13, à l'Académie de Rouen). *Ann Chim* 1806; 60: 17-60; errata 112.
92. Descroizilles senior, *On the alkalies of Commerce, and on the least expensive process for ascertaining their commercial value by means of the instrument called the Alkali-meter*. Read to the Academy of Rouen, 5 Thermidor, An. 13. *Phil Mag* 1807; 28: 171-8; 244-52; 311-16.
93. Page FG. The birth of Titrimetry: William Lewis and the analysis of American potashes. *Bull Hist Chem* 2001; 26: 66-72.
94. Stephen WI. William Lewis, MB, FRS (1708-1781) – Chemist extraordinary. *Proc Anal Div Chem Soc* 1979; 16: 91-2.

95. Dossie R. Observations on the Pot-Ash brought from America, with respect to its goodness, sophistication. London 1767.
96. Berthollet. Arte del blanqueo por medio del ácido muriático oxigenado. Madrid: Imprenta Real 1796.
97. Berthollet. Elementos del arte de teñir. Tomo I. Madrid: Imprenta Real 1795.



Social, technical and economic aspects related to the introduction of penicillin in Spain (1944-1959)

Title in Spanish: *Aspectos sociales, técnicos y económicos relativos a la introducción de la penicilina en España (1944-1959)*

Antonio González Bueno^{1,*}, Raúl Rodríguez Nozal², Emilia Castellanos Ruiz¹

¹Universidad Complutense de Madrid. ²Universidad de Alcalá.

ABSTRACT: We analyze the process of introduction of penicillin in Spain from several sides: the projects that led to its manufacture by national companies as result of the autarkic policy established during the Franco regime; the requests done by Spanish companies for patents of industrial processes related to penicillin; its dissemination by the media, the view offered by the professionals and the social impact that the product had in Spain.

RESUMEN: Analizamos el proceso de introducción de la penicilina en España desde varios frentes: los proyectos que conllevaron a su fabricación por empresas nacionales, dentro de la política autárquica trazada por las autoridades españolas durante el franquismo; las solicitudes, por parte de empresas españolas, de patentes de invención concernientes a procesos industriales relacionados con la penicilina; su difusión desde los medios de comunicación, la visión que de ella ofrecen los profesionales del medicamento y la renercusión

*Corresponding Author: agbueno@ucm.es

Received: December 16, 2017 Accepted: January 9, 2018

An Real Acad Farm Vol. 83, N° 4 (2017), pp. 421-432

Language of Manuscript: Spanish

1. LA PENICILINA EN ESPAÑA: LOS INICIOS

En marzo de 1944, los medios de comunicación españoles se hacen eco de las primeras remesas de penicilina que, al menos de manera legal, llegaron del extranjero. Una docena de ampollas inyectables fueron enviadas, desde Brasil, con objeto de curar a la niña Amparo Peinado, afectada de septicemia y prácticamente desahuciada por los médicos que la atendían; fue un envío complicado, en plena Guerra Mundial, necesitó de cuatro trayectos aéreos lo que incrementó, aún más, el elevado coste de esta preciada droga; *La Vanguardia Española* valoró el importe de esta medicación en unos quince mil dólares, que fue pagado por el Gobierno brasileño (1). La avanzada fase en que se encontraba la enfermedad sólo permitió ampliar, unos pocos días, la vida de aquella niña del barrio de Argüelles.

Otro tratamiento, prácticamente simultáneo, se llevó a cabo en La Coruña; fueron nueve viales, en total 200.000 U.I., reservados para un ingeniero de la mina de wolframio de Lage (Coruña). El envío llegó vía Gibraltar, procedente del contingente norteamericano que combatía en el norte de África (2); lamentablemente, la dosis resultó insuficiente. La prensa periódica española informó de otros tratamientos con penicilina inmediatamente posteriores, como los administrados al torero Manolo Cortés (3), al capitán de artillería Ricardo Sotomayor Muro (4), al niño Isaac Rodríguez Cantero (5) o al teniente-general José Moscardó Ituarte (6); sin embargo, el primer éxito de resonancia de la penicilina en España fue la curación del

médico Carlos Jiménez Díaz (1898-1967), que salvó la vida después de contraer una neumonía en agosto de 1944, gracias a dos gramos de penicilina conseguidos de estraperlo en el madrileño bar de Perico Chicote (7).

Hasta aquí la versión oficial, sin embargo es posible que no fueran éstos los primeros tratamientos con penicilina en nuestro país. Dejando a un lado el mercado de estraperlo (8), es probable que caldos penicilínicos sin purificar fueran testados en diferentes enfermos, ya a mediados de 1942, con resultados satisfactorios. El 12 de marzo de 1944 aparecía un artículo en *La Vanguardia Española* portador de un título suficientemente explícito: "Precisiones sobre la 'penicilina'. Hace casi dos años que la famosa droga se obtiene en Barcelona, en donde se utiliza con resultados satisfactorios. Ha sido hallado un principio terapéuticamente activo en las naranjas del desecho del Mercado del Borne".

En su escrito, el periodista alude a los trabajos realizados por el bacteriólogo Antonio Valls Conforto (1904-1997), formado como médico en la Universidad de Barcelona, quien realizó una estancia postdoctoral en el Instituto Pasteur de París durante el curso 1929/30. En 1930 retornará a Barcelona y obtendrá, por oposición, plaza de técnico del Laboratorio Municipal; un par de años después será nombrado Profesor ayudante de Microbiología junto a Antonio Salvat Navarro (1883-1977). Durante los años de la Guerra Civil mantuvo su actividad investigadora en el Laboratorio Municipal de Barcelona, junto al médico Pedro Domingo Sanjuán

(1896-1979) y al farmacéutico Pedro González Inglada (1886-1955), trabajaron sobre productos con actividad antibiótica frente al bacilo del tifus exantemático que afectó a la población de la Ciudad Condal. Acabada la contienda fue sometido a un proceso de depuración por la Junta del Colegio de Médicos de Barcelona, que le acusó de trabajar en la guerra bacteriológica además de pertenecer a la masonería; como consecuencia, en 1940, se le inhabilitó para el ejercicio profesional durante un año y perpetuamente para ocupar cargos directivos de la sanidad pública (9).

En una situación clara de exilio interior, Antonio Valls Conforto y Pedro González Inglada fueron contratados por el *Laboratorio Experimental de Terapéutica Inmunológica* (LETI) de Barcelona donde, gracias al auxilio de Jaime Suñer Pi, continuaron sus investigaciones sobre productos con acción bactericida. En 1960 el Ministerio del Interior declaró que no se habían podido probar las acusaciones contra Antonio Valls y le fueron devueltos sus derechos civiles; fue reintegrado al Laboratorio Municipal de Barcelona donde sería nombrado responsable del Departamento de Bacteriología General y Epidemiología Humana. La presencia de Antonio Valls Conforto en el *Laboratorio LETI*, fundado en 1919 por quien fuera su director de investigación, Pedro Domingo Sanjuán, debe ser considerada de especial importancia para entender la posterior presencia de esta industria en el mercado de los preparados con penicilina, aunque la bibliografía generada durante los años de la dictadura haya olvidado su nombre.

El primero de los trabajos de investigación españoles sobre este medicamento puede asignarse a este mismo equipo investigador; vio la luz en 1944, en las páginas de *Medicina Clínica*, llevaba por título “Obtención de la penicilina y otras experiencias” y las firmas de Pedro González Juan, Jaime Suñer Pi -gerente del *Laboratorio LETI*, vinculado al Laboratorio Municipal de Barcelona- y F. González -médico asistencial- (10); el texto fue presentado, en abril de 1944, por Pedro González Juan en la Real Academia de Medicina de Barcelona; ese mismo año, en octubre de 1944, salió de prensas el primer caso clínico, publicado por A. y E. de la Peña en *Revista Clínica Española*: “Tratamiento por la penicilina de las formas de blenorragia resistentes a otras terapéuticas”, realizado con éxito en la Clínica Universitaria de la Facultad de Medicina de Madrid (11).

Nuestra Real Academia fue conocedora de este avance terapéutico desde los primeros momentos; el 17 de mayo de 1944, la voz de Manuel González Jáuregui (1901-1992) ofrecía un análisis resumido de la situación de la penicilina en aquel año y sobre la previsión de su aplicación terapéutica; la conferencia se tituló “La penicilina. Estado actual de este problema” (12). Coetáneos a estos trabajos son las primeras recopilaciones de la historia del descubrimiento y las aplicaciones de la penicilina; se hace obligado recordar los libros de Florencio Bustinza Lachiondo (1902-1982) (13), sobre *La penicilina y los antibióticos antimicrobianos* (Madrid, Plus Ultra, 1945) y José Álvarez-Sierra (1888-1980). *Lo que cura la*

penicilina: presente y futuro de una droga mágica (Madrid, Afrodisio Aguado, 1944).

Los acontecimientos se ciñen a la lógica y, en el verano de 1945 (26/07), la empresa LETI registró el primer preparado penicilínico de origen español: la ‘Pomada de penicilina Leti’ (E.N. 6.990). Apenas unos meses después, en 1946, el *Laboratorio LETI* estableció relaciones comerciales con la empresa *Unión Químico-Farmacéutica* (UQUIFA), enfocadas a la producción de penicilina mediante cultivos de *Penicillium* sobre gel en frascos ‘Roux’ (14), fruto de ello es el registro del inyectable ‘Penicilina Leti / Uquifa’, anotado en mayo de 1946 (04/05) (E.N. 7.855) (15).

Sin duda se refiere a estos productos el crítico comentario vertido por Víctor Villanueva Vadillo (1906-1996) en la conferencia pronunciada con motivo del I Congreso Hispano-Portugués de Farmacia celebrado en Madrid, en el verano de 1948:

“... funciona, desde hace más de un año en Barcelona una pequeña instalación piloto, por vía de ensayo, y si su inapreciable producción [de penicilina] no ha podido tener sino trascendencia regional, ello no debe restar a tan plausible iniciativa” (16).

2. UN BIEN ESCASO: EL COMITÉ DE LA PENICILINA

En este caso, nuestro país no asumía singularidad alguna frente a la situación del mundo occidental; pese al interés español por esta droga, lo cierto es que el 95% de las existencias mundiales de penicilina estaba en manos de los Estados Unidos. En septiembre de 1944, España llegaba a un acuerdo con la potencia norteamericana para recibir periódicamente este medicamento, en principio destinado a ‘los enfermos más necesitados’; el primero de estos envíos llegó a Madrid el día 20 de septiembre de ese año.

Con el fin de regular la importación, distribución y empleo de este valiosísimo medicamento, el Consejo Nacional de Sanidad nombró una comisión técnica, presidida por Carlos Jiménez Díaz, de la que también formaron parte el bacteriólogo Gerardo Clavero del Campo (1895-1972), el farmacéutico Nazario Díaz López (1902-1988) y el dermatólogo Enrique Álvarez Sainz de Aja (1884-1964) (17). Una comisión eminentemente técnica, pero con una clara ideología política por parte de sus miembros.

Mes y medio después de recibida la primera remesa procedente de Estados Unidos, se publicó una orden de la Dirección General de Sanidad por la que se fijaban una serie de normas a seguir para optimizar este escaso recurso y que conllevaba el control absoluto del Comité Nacional de la Penicilina, incluyendo el precio del producto y las personas a las que debería llegar este medicamento; el uso preferente de la penicilina para las enfermedades señaladas por las autoridades sanitarias norteamericanas; normas dirigidas a médicos y enfermos para realizar las peticiones de penicilina y, caso de que fueran concedidas, el modo de realizar el seguimiento durante el tratamiento; también se

dictaban pautas sobre las ‘casas tenedoras de este producto’ con el objeto de suministrarlo correctamente a los enfermos (18). Un protocolo prácticamente dictado por Chester-Scott Keefer (1897-1972), director del ‘Panel de la Penicilina’ perteneciente al *Committee on Chemotherapy of the US National Research Council* (19). La disposición afectaba sólo al personal civil; la penicilina que se distribuía al Ejército tenía sus propios cauces, regulados a través de la Inspección General de la Farmacia Militar (20).

La penicilina procedente de EE.UU. era retirada de la Aduana por orden del Inspector General de Farmacia, Nazario Díaz, quien indicaba la oficina de farmacia en la que se debería depositar (21); estos establecimientos estaban obligados a llevar la contabilidad detallada de la penicilina entregada y de los enfermos que recibían la medicación. Para llevar a cabo todos estos trámites, la Dirección General de Sanidad habilitó un Servicio que regulaba lo relativo a la penicilina, integrado en la Inspección General de Farmacia. Todos los solicitantes de este medicamento tenían que acudir a estas instalaciones, situadas en la madrileña Plaza de España, e ir provistos de un completo historial clínico, análisis de orina, sangre y líquido cefalorraquídeo, curva de temperatura del enfermo y radiografía, si la enfermedad lo requería. Estos historiales se enviaban a médicos del Comité Nacional de la Penicilina para su estudio e informe; caso de que éste fuera positivo, se emitían vales para que las farmacias depositarias de la penicilina hicieran la entrega de la mercancía (22).

Este procedimiento, que se iniciaba a solicitud de los familiares del enfermo, era prácticamente imposible llevarlo a término, por muchas familias españolas, si se

tiene en cuenta el índice de analfabetismo de la época, por lo que proliferaron empresas que efectuaban los trámites de ‘gestión y entrega rápida’ de la penicilina (23). El problema del suministro de este medicamento fue ampliamente debatido en las reuniones del Consejo de Sanidad Nacional celebradas entre noviembre de 1944 y octubre de 1945 (24).

Durante los primeros días de julio de 1945, el Director general de Sanidad, José Alberto Palanca Martínez-Fortún (1888-1973), de visita en Barcelona, se afanaba, en sus declaraciones efectuadas a la prensa, por trasladar a la población la idea de una gestión adecuada de la penicilina; afirmó que Estados Unidos estaba enviando toda la cantidad que se le pedía y, además, adelantaba como primicia: “prosiguen en Barcelona, Madrid y otras ciudades los ensayos para producir este medicamento en España; ensayos que han dado resultados muy esperanzadores” (25).

A pesar de su popularidad, la penicilina era, en 1945, un bien escaso procedente de importaciones legales o, más frecuentemente, obtenido de estraperlo. En una entrevista realizada al secretario del Comité Nacional de Penicilina, en septiembre de 1945, éste refería que el coste de un tratamiento completo podía ascender a trescientas pesetas, y que cada ampolla tenía un precio entre 23 y 30 pesetas (26); las cifras se entienden algo mejor si se correlacionan con el precio de otros productos intervenidos en agosto de este mismo año (27) (tabla 1); sólo un reducido grupo social tendría, en sus momentos iniciales, acceso a este medicamento. El precio aludido corresponde a tratamientos legales; los procedentes del estraperlo alcanzarían, como todos los productos intervenidos, precios más altos en el mercado negro (28).

Tabla 1. Precios comparativos de productos intervenidos en 1945.

Tratamiento con penicilina	Aceite / litro	Arroz /kilo	Azúcar /kilo	Patatas /kilo	Leche fresca /litro	Pasta sopa /kilo	Jabón /kilo
300 pesetas	4,80 pts	2,66 pts	5,01 pts	1,30 pts	1,35 pts	4,0 pts	4,0 pts

En septiembre de 1945, el día 26, se suministraba en Orense la primera dosis de penicilina con cargo al Seguro Obligatorio de Enfermedad; la prensa dio el nombre de la beneficiaria, Carmen Agón (29). Ese mismo día se informaba de la concesión del Premio Nobel de Fisiología o Medicina, de manera conjunta, a Sir Alexander Fleming (1851-1955), Ernst Boris Chain (1906-1979) y Sir Howard Walter Florey (1898-1968).

En enero de 1947 el *Boletín Oficial del Estado* publicaba una disposición anhelada por muchos farmacéuticos que confiaban en esta droga para mejorar su negocio y facilitar su expansión profesional; la orden, fechada en 30/12/1946, autorizaba la venta de penicilina en las farmacias españolas debidamente autorizadas (30). Sin embargo, lo que en principio pareció ser una buena medida para el colectivo farmacéutico, acabó en

quebradero de cabeza para muchos profesionales; algunos no disponían de frigoríficos, indispensables para su correcta dispensación, otros -por su situación geográfica- no recibían con regularidad este producto, también los había que no daban salida al mismo e, incluso, estaban los que pensaban que, a fin de cuentas, era un negocio más propio de proveedores e importadores que de oficinas de farmacia y, también, más lucrativo para estos colectivos que para los farmacéuticos (31). La norma sería ampliamente saludada por la prensa periódica; un redactor de *ABC* escribirá:

“No penen, pues, ustedes, doctores y pacientes, por un poco de penicilina. Van a disponer de la que deseen sin tener que recurrir al camarero estraperlista que quiera vendérsela, con la excesiva ganancia, ni al señor que le sobró un poco de la que trajo de América, ni a toda esa maraña, en fin, de intermediarios que hacen, en tantos

órdenes de nuestro cotidiano pasar, como clandestinas todas las cosas, incluso las más naturales” (32).

Tras la promulgación de la norma que permitía la dispensación de la penicilina en las farmacias, el Comité Nacional de la Penicilina fue suprimido; la decisión fue adoptada por el Consejo Nacional de Sanidad, el día 1 de febrero de 1947, presidido por el Ministro de la Gobernación, Blas Pérez González (1898-1978) (33).

3. PRIMERAS PATENTES ESPAÑOLAS DE PENICILINA

La ‘Penicilina Leti’, a la que nos hemos referido líneas arriba, fue la primera registrada de origen español, pero no tuvo la primacía ante la Dirección General de Sanidad; un par de meses antes, a fines de mayo de 1945, fue inscrito otro producto: ‘Penicilina OM (inyectable)’, propiedad de

la *Sociedad General de Farmacia S.A.*, con sede en Esplugues (Barcelona). No obstante, el propio nombre del medicamento ya nos pone sobre la pista de su verdadero origen: el producto era fabricado en el *Laboratorio OM*, sito en Meyrin-Ginebra (Suiza), la empresa española se ocupaba sólo de su importación y comercialización; aunque el *Laboratorio OM* tenían su sede en Suiza, en zona neutral, la propiedad estaba vinculada a una sociedad alemana, una posición en consonancia con la política del Régimen, aún oficialmente germanófila.

Ese mismo año de 1945 se registraron otros tres medicamentos con penicilina (tabla 2), propiedad del *Instituto de Biología y Sueroterapia* [IBYS] de Madrid, fueron comercializados bajo el común de ‘Micoína’ y son antimicóticos locales en forma de inyectables.

Tabla 2. Penicilinas registradas en España durante 1945 (34).

Medicamento	Registro	Fecha	Laboratorio
Penicilina OM (inyectable)	6.479	22/05/1945	<i>Sociedad General de Farmacia S.A.</i>
Pomada de penicilina Leti	6.990	26/07/1945	<i>Laboratorio Experimental de Terapéutica (LETI)</i>
Micoína (pomada)	6.964	03/09/1945	<i>Instituto de Biología y Sueroterapia (IBYS)</i>
Micoína penicilina bruta normal (inyectable)	7.007	14/09/1945	<i>Instituto de Biología y Sueroterapia (IBYS)</i>
Micoína líquido (inyectable)	7.006	21/12/1945	<i>Instituto de Biología y Sueroterapia (IBYS)</i>

En la primavera de este año de 1945 se registró, también, la primera de las patentes españolas de penicilinas de la que tenemos noticia; corresponde a *Destilaciones Aromáticas S.L.*, una empresa con sede en Bilbao, alejada del ámbito farmacéutico pero bien atenta, como los industriales azucareros de Hawaii, al futuro negocio que supondría la producción de este antibiótico; la patente, presentada a registro en marzo de 1945, coincidiendo con la entrada del primer contingente de penicilina efectuado vía Brasil, se limita a indicar las cuatro fases de que consta el proceso de fabricación del extracto penicilínico: fermentación, estabilización, depuración y concentración, y a presentar un modelo de tanques, construidos en acero vitrificado, donde habría de tener lugar el procedimiento (35).

Un par de años después de esta patente ‘pionera’, dos empresarios -el escritor español Julián Carlavilla del Barrio (1896-1982), policía, férreo anticomunista, más conocido por el pseudónimo de ‘Mauricio Karl’, quien tiene el triste honor de ser considerado “uno de los más activos propagandistas antisemitas desde la etapa republicana” (36)-, y el ruso Miguel Benois, ambos residentes en Madrid, presentan una propuesta para lograr una mayor estabilidad en el caldo penicilínico obtenido

mediante cultivo sintético (37); consistía en la adición de lanolina y grasas hidrogenadas, de modo que se formara un tampón al que añadían, con ánimo de aumentar la estabilización, algunos antisépticos; la fórmula estaba diseñada para la preparación de cremas o pomadas de uso externo, destinadas al tratamiento de procesos bacterianos dermatológicos (38).

A ésta se suman un par de patentes relativas a los sustratos sobre los que transferir la penicilina a los usuarios (tabla 3); en mayo de 1947, un grupo de empresarios catalanes: José Romeu Guardiola, Isidro Alsina Argemí y Pedro Torrella Oliva, junto al ingeniero Carlos Más Gibert, profesor de Física y Química en Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales de Tarrasa, presentaron un expediente para introducir en el mercado español unos ‘chicles’ con propiedades refrescantes, en cuya composición incluyen mentol y ácido cítrico acompañados de una esencia adecuada para aromatizar y refrescar la boca, a este producto se le incorpora penicilina, con lo que intentan prevenir o curar enfermedades bucales; la fórmula ya estaba siendo comercializada por la empresa norteamericana *E.R. Squibb & Sons*, lo esencial del proceso consiste en la estabilización de la penicilina, para ello se mezcla en forma de sal cálcica soluble y se emulsiona con

retardadores grasos, de manera que la penicilina se libere lentamente con la saliva (39). En mayo de 1948, será un

empresario valenciano, Jesús Barrachina Aparisi, quien se interese por lograr unos ‘supositorios de penicilina’ (40).

Tabla 3. Patentes relacionadas con la penicilina, presentadas a registro por inventores españoles (1945-1948) (41).

Solicitante	Residencia	Patente	Expediente	Presentación
<i>Destilerías Aromáticas S.A</i>	Bilbao	Invencción	169.274	17/03/1945
Carlavilla del Barrio, Julián; Venois, Miguel	Madrid	Invencción	177.419	31/03/1947
Romeu Guardiola, José; Alsina Argemí, Isidro; Torrella Oliva, Pedro; Mas Ginert, Carlos	Barcelona	Introducción	178.294	19/05/1947
Barrachina Aparisi, Jesús	Valencia	Invencción	183.655	11/05/1948

Estos ‘ingenios’, todos ellos provenientes de campos no afines a la terapéutica, constituyen en si mismos una prueba del interés de los industriales españoles por un mercado que, como bien intuían, tendría un marcado protagonismo económico.

4. UN DUOPOLIO IMPERFECTO

Ni las importaciones legales, ni la parca fabricación nacional, ni los contingentes norteamericanos –que no fueron pocos- (42), ni el estraperlo –que tampoco fue pequeño- eran suficientes para abarcar la demanda nacional, situación que se agravaba por la complicada e ineficiente gestión de la solicitud del medicamento. El acceso universal a la penicilina, pese a las manifestaciones de los gestores sanitarios del Régimen, era utópico. Además, todas estas vías resultaban inapropiadas, e inaceptables, para la mentalidad y la planificación autárquica de quienes dirigían España.

Esta anómala situación trataría de ser resuelta, casi dos años después de publicada la orden ministerial por la que se autorizaba la venta de penicilina en las farmacias, mediante la aprobación, por el Ministro de Industria y Comercio, Juan Antonio Suanzes y Fernández (1891-1977), de un decreto de 1 de septiembre de 1948 (*BOE* 06/09/1948), por el que se declaraba de ‘interés nacional’ la fabricación de penicilina y se abría un concurso, entre entidades españolas, para designar las dos que habrían de asumir, al cincuenta por ciento, este monopolio (43).

Pocos días después, en este mismo septiembre de 1948, ya se empezaba a filtrar en la prensa el interés de ‘tres grupos financieros y científicos’ por competir por el duopolio de la fabricación de la penicilina. José Alberto Palanca Martínez-Fortún, Director general de Sanidad, declaró a la prensa que España necesitaba, al año, 10 millones de frascos de 100.000 unidades, a lo que había que añadir las precisas para el sector veterinario. En el verano de 1948 se estaban importando de ‘dos a tres millones de frascos’, según él mismo expresó (44).

Habría que esperar un año, al verano de 1949, para que se resolviera el concurso para la fabricación de la penicilina; sendos decretos firmados por Juan Antonio Suanzes concederán el duopolio a las proposiciones presentadas por el *Consortio Químico Español S.A. / Banco Urquijo S.A.* y por *Industria Española de Antibióticos S.A.*, con los beneficios derivados de su consideración como empresas de ‘interés nacional’; las capacidades de producción se

fijan, para cada uno de los consorcios, entre seis y doce millones de dosis de 100.000 unidades internacionales Oxford al año, prácticamente el doble de lo que era necesario, para consumo humano, en opinión expresada por el Director general de Sanidad unos meses atrás.

La resolución señala que el *Consortio Químico Español S.A. / Banco Urquijo S.A.* constituiría una empresa denominada *Compañía Española de la Penicilina y Antibióticos*, la cual emplearía patentes, procesos y procedimientos cedidos por *Merck*, Casa establecida en Rahway (EE.UU.), con la que el médico Antonio Gallego Fernández (1915-1992) (45), en representación del consorcio, había firmado un contrato el 3 de febrero de 1949. Por su parte, la empresa denominada *Industria Española de Antibióticos S.A.* sería participada económicamente por la norteamericana *Schenley Laboratories Inc.*, de New York (EE.UU.), con quien firmó contrato el 5 de febrero de 1949 y que actuaría como cesionaria de las patentes y procesos para la fabricación de la penicilina G. La primera establecería su planta de producción en Madrid –posteriormente abriría otra en Aranjuez-, la segunda en León (46).

El grupo financiero que arropaba económicamente a CEPA estaba compuesto por *Banco Urquijo* (11%), *Banco Hispano Americano* (11%), *Banco Herrero* (9%), *Unión Española de Explosivos Río Tinto* (11%), *Sociedad Anónima Cros* (11%), *Energía e Industrias Aragonesas* (9%), *Fábrica Española de Productos Químicos y Farmacéuticos* (FAES) (8%), *Productos Químicos Sintéticos* (8%), *Banca March* (12%) y, de manera personal, el diplomático Antonio Sangróniz (1895-1980), marqués de Desio (7%); excepto los dos últimos accionistas, vinculados muy directamente con el Régimen, el resto eran empresas con fuertes ligazones entre ellas y, en último término, pertenecientes o en la órbita del *Banco Urquijo*; el primer presidente del consejo de administración de CEPA fue Antonio Basagoiti Ruiz, hijo del fundador del *Banco Hispano-Americano* (47). La dirección técnica de CEPA fue conferida a Antonio Gallego Fernández, mientras que el consejero delegado fue Antonio Robert Robert (m. 1976), miembro del Consejo de Economía Nacional y consejero delegado de *Bayer*, quien había desempeñado el cargo de Director general de Industria en los primeros años del franquismo; su figura queda ligada al *Banco Urquijo* (48).

La participación del *Banco Urquijo* en el accionariado

de una empresa farmacéutica no constituye novedad ni excepción; conviene recordar que fue a las entidades químico-farmacéuticas del grupo *Cros-Explosivos-Urquijo* a las que, en diciembre de 1949, se le habían adjudicado los bienes en España de las casas *Bayer* y *Schering*, procedentes de la expropiación de empresas alemanas en Europa, como consecuencia de la aplicación del programa Safehaven, con el que se privaba a las entidades alemanas de sus propiedades como consecuencia de la derrota germana en la II Gran Guerra (49).

Por su parte, el grupo empresarial *Antibióticos S.A.* quedó integrado por las industrias químico-farmacéuticas nacionales *Ibys*, *Abelló*, *UQUIFA*, *Zeltia*, *LETI* e *Instituto Llorente*, aunque esta última empresa dejaría de pertenecer a *Antibióticos S.A.* unos años después, en los inicios de 1957, tras el fallecimiento de su fundador -Jacinto Megías Fernández (1888-1956)-, acaecido en diciembre del año anterior; además contaba con la participación de la firma americana *Schenley Laboratorios*. Inicialmente instaló su departamento de envasado en Madrid, en uno de los locales que fuera propiedad de *IBYS* aunque, desde los inicios de 1950, disponía del plan íntegro para la instalación, en León, de la fábrica para la futura producción de la materia prima (50). Como director técnico farmacéutico se había nombrado, el 13 de enero de 1950, a Álvaro Zugaza Bilbao (1911-2002) (51); como gerentes de la entidad actuaron Ricardo Urgoiti Somovilla (1900-1979), antiguo secretario general de *IBYS*, y Federico Mayor Domingo (m. 1997), sobrino del fundador de *LETI* (52).

Las autoridades económicas españolas impusieron, a las industrias que ostentaban el oligopolio de la comercialización de la penicilina, la obligación de contribuir con una aportación económica a la investigación científica y técnica como parte de la política industrial. Estas cantidades, entre el 0,5 % y el 1% de las ventas anuales, consideradas como 'donativos', resultaban en realidad impuestos encubiertos que eran aportados anualmente al Patronato 'Juan de la Cierva' del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), cuyo presidente era, en aquellos momentos, el también presidente del Instituto Nacional de Industria, Juan Antonio Suances Fernández (1891-1977).

Con el fin de cumplir con esta obligatoriedad contributiva, y a la vez atender a los propios intereses de *CEPA* y de las empresas químico farmacéuticas del *Urquijo*, sus directivos promovieron la creación del *Instituto de Farmacología Española (IFE)*, cuyo director fue, desde su fundación en 1950, Antonio Gallego Fernández, que también ocupaba el cargo de director de *CEPA* (53). Ambas entidades compartieron no solo a su director, sino también sus locales en la calle Méndez Álvaro de Madrid hasta 1954, así como su colaboración técnica a lo largo de toda su andadura. El *Banco Urquijo* convertía así una obligación fiscal en un proyecto directamente relacionado con sus fines industriales y los intereses investigadores de Antonio Gallego.

Estos son los hechos; pero, para valorarlos, conviene

contextualizarlos con la situación internacional en que se encontraba España. En diciembre de 1948, en los momentos previos a la firma de los acuerdos entre las empresas españolas y norteamericanas, el presidente de la Delegación de la Cámara de Comercio Americana en España, Walter Smith, en su felicitación navideña:

“Expresó su optimismo ante las posibilidades que ofrece el año próximo y que se traducirán en hechos satisfactorios para ambos países. Tanto la Cámara de Comercio Americana en Madrid como la de Washington, han recibido, según dijo, instrucciones para preparar la intensificación de relaciones comerciales entre España y los Estados Unidos” (54).

Apenas unos días después de que se produjera la firma de los acuerdos entre las empresas españolas y norteamericanas, en el mismo febrero de 1949, el Presidente de la Junta de la Cámara de Comercio Americana, Mac Klein, subrayó ante el Encargado de Negocios de los Estados Unidos, Paul T. Culbertson:

“... que las recientes disposiciones del gobierno español estableciendo cambios especiales para la importación de productos americanos constituía un primer paso en el encauzamiento de la normalidad en el intercambio comercial entre los dos países” (55).

Esta cooperación entre EE.UU. y España coincide en el tiempo con la recomendación de economistas americanos de incrementar las relaciones comerciales con nuestro país (56). El 7 de agosto de 1950, el Senado estadounidense aprobó una enmienda del senador Patrick [Pat] Anthony McCarran (1876-1954) otorgando un empréstito a España de 100 millones de dólares para impulsar las relaciones comerciales entre ambos países:

“Estimo que esta decisión senatorial [declara a la prensa española] señala el comienzo de una nueva era de cooperación y de amistosas relaciones entre los Gobiernos de Washington y Madrid (...) Los acontecimientos de los últimos meses demuestran la necesidad de que todas las fuerzas del mundo opuestas al comunismo de tipo soviético deben mantenerse juntas o correr el riesgo de caer separadamente bajo la dominación del poder rojo. Los esfuerzos de los Estados Unidos por realizar económicamente las reconstrucciones de las naciones adheridas al 'Plan Marshall' han culminado en un franco éxito. Sin embargo, se ha hecho evidente que todos los países opuestos al enemigo común deben ser reconocidos como aliados” (57).

Resulta obvio relacionar este cambio en la política exterior española y norteamericana con la concesión de las dos licencias asignadas a la *Compañía Española de la Penicilina y Antibióticos [CEPA]* / *Merck* y a *Industria Española de Antibióticos / Schenley Laboratories Inc.*

La prensa había aludido a una tercera opción para fabricar penicilina en España; no sabemos con certeza cuál pudo ser, pero sí disponemos de algunos datos que nos acercan a una hipótesis verosímil. El privilegio del duopolio se estableció, legalmente, en quince años de protección; sin embargo, en 1953, apenas cuatro años

después de concederse, las autoridades españolas adjudicaron una tercera licencia nacional para elaborar penicilina, en esta ocasión bajo el paraguas del grupo empresarial *Alter*, en concreto a través de su empresa participada *Farmabiión*, quien utilizó procedimientos y patentes del laboratorio danés *Leo Pharmaceutical Products* (58).

No era una empresa extraña en nuestro país; Florencio Bustinza estuvo interesado por la producción danesa de antibióticos desde marzo de 1946, cuando estableció contacto epistolar con Johanna Westerdijk (1883-1961), la fisióloga vegetal a quien se debe la identificación de *Penicillium notatum* Westling en los materiales empleados por Alexander Fleming (59); de esta misma fecha data una “Memoria técnica de la industria que *Leopenicilina Española S.A.* solicita instalar en Navarra”, presentada ante el Ministerio de Industria y Comercio, con ánimo de fabricar penicilina bajo patente danesa de *Kemiske Fabrik*; el expediente fue trasladado al Instituto Nacional de Industria, donde se elaboró un informe en el que se recomendaba disponer de penicilina en España para satisfacer las necesidades sanitarias. Sin embargo, el proyecto de *Leopenicilina* no prosperó (60). En 1952, Florencio Bustinza mantenía buenas relaciones con *Leo Pharmaceutical Products*, con cuyo ‘Leocillin’ había realizado ensayos clínicos en Madrid, junto a los médicos Juan Martínez Díaz y Santiago Martínez Fornés (61), discípulos ambos de Gregorio Marañón Posadillo (1887-1960).

5. EL MERCADO NEGRO DE PENICILINA VISTO A TRAVÉS DEL CINE

El sueño autárquico pronto empezó a dar satisfacciones, al menos para quienes lo defendían como mecanismo infalible de progreso nacional; en enero de 1950 la Dirección General de Sanidad se aventuraba a calificar el aprovisionamiento de penicilina patrio como “en cantidad suficiente para poder hacer la distribución directa y normal al público a través de las farmacias” y se animaba a dictar una orden por la que, de acuerdo con la petición formal del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid, se autorizaba “en el territorio nacional la venta del medicamento Penicilina en todas las farmacias”, suprimiendo los despachos oficiales de esta droga y fijando un ‘cupo de reserva’ en el mencionado Colegio de Madrid (62).

A pesar de todos estos esfuerzos, el fantasma del mercado negro seguía presente; una de las razones que estimularon el estraperlo fue la creencia popular de que la penicilina española era de peor calidad que la extranjera; el Ministerio de la Gobernación intentó revertir la situación con nuevas disposiciones legales, que establecían el ‘sello de garantía’ para estos productos elaborados en España (63).

Pese a todo, el estraperlo siguió siendo un referente; el cine se hará eco de ello y, en 1952, Xavier Setó (1926-1979) grabó *Mercado Prohibido*; el título inicialmente propuesto para la película fue *400.000 unidades* (64), lo

que ahonda aún más en la justificación central de la película: el comercio ilegal de la penicilina; el *Anuario del Cine Español* ofrece una breve síntesis de la obra:

“Contrabando y venta abusiva de antibióticos. El jefe de una banda de traficantes se ve obligado a implorar entre todos aquellos que engañó y traicionó muchas veces, unos gramos de la droga que salvará a su hijo. Es detenido por la policía, que le permite acudir al lecho de su hijo antes de ingresar en prisión” (65).

El visionado de la película nos desvela algunos de los problemas cotidianos en torno al empleo de la penicilina en España a comienzos de los años cincuenta; ya en las primeras secuencias de la cinta se nos presenta a Germán, un empresario supuestamente modélico, que en realidad se dedica al contrabando de penicilina, para lo cual emplea su almacén frigorífico en el que conserva un producto aún termolábil, el mismo espacio en que se almacenaba el pescado que esta organización criminal utilizaba como tapadera.

En el fondo, el largometraje *Mercado prohibido* es utilizado como herramienta propagandística con el fin de mostrar las excelencias de nuestro modelo de economía autárquica y, también, de nuestro progreso industrial en materia de antibióticos. Uno de los diálogos de la película ilustra esta situación; es mantenido entre Germán y uno de sus habituales compradores, un practicante que rechaza el pedido habitual ante la promesa de penicilina para todos los españoles realizada por el Gobierno:

Practicante: ‘Pues, bien. No puedo admitir su mercancía. No me la envíe’

Germán: ‘¿Por qué?’

Practicante: ‘No me interesa, ya se lo he dicho. Se espera un suministro oficial a 24 pesetas’

Germán: ‘Pero ya sabe usted que esos suministros oficiales son exigüos. No nos han afectado nunca. Nuestros precios se mantendrán altos. Lo sostendremos nosotros! Podemos hacerlo!’

Practicante: ‘Lo siento. Creo que esto se acabó! Sé que el Gobierno ha asegurado el reparto a todas las farmacias del país y esto terminará con los precios de ustedes’

Germán: ‘Óigame! Tengo aquí un cargamento que he pagado a buen precio! Y usted se comprometió conmigo!’

Practicante: ‘Lo lamento. No puedo hacer nada’

Germán: ‘Oiga. He comprometido cerca de un millón en este asunto’. Oiga! Oiga!’ (66)

Pese al mensaje patriótico y tranquilizador que la cinta intentaba transmitir, en 1950 el mercado negro de penicilina seguía campando a sus anchas en España; hasta la prensa profesional farmacéutica se hacía eco de esta actividad delictiva, ese ‘nuevo malo’: que los españoles estaban conociendo, un personaje que no era ni comunista, ni espía, ni atracador de bancos, ni truculento vampiro, sino el estraperlista de medicamentos que robaba antibióticos de los hospitales para traficar con ellos en el negrísimo mercado que crearon las circunstancias (67).

6. EL FINAL DE UNA ÉPOCA

Desde los inicios de 1949 algunos médicos y empresas farmacéuticas comenzarán a ofrecer soluciones, de carácter extemporáneo, para solventar ciertos problemas sobre el uso de las sales penicilínicas disponibles en el mercado, una solución coyuntural para lograr, con los medios disponibles en una economía autárquica, superar situaciones a la que en otros países se había llegado a través de otros procedimientos. Entre 1949 y 1956 el número de patentes españolas relacionadas con la penicilina aumentó sustancialmente; los intereses de los inventores se dirigieron, básicamente, a la obtención de ésteres de penicilina y penicilinas de acción retardadas, también se presentaron algunos expedientes relativos a asociaciones de penicilina: complejos penicilina-antitoxinas y penicilina-quinina.

El desarrollo de procesos de semi-síntesis por investigadores españoles comenzó a desarrollarse en torno a 1952, para entonces *Unión Químico-Farmacéutica S.A.E.*, *Laboratorios del Dr. Esteve S.A.*, *Antibióticos S.A.* o el *Instituto de Farmacología Española* -vinculado a la *Compañía Española de Penicilina y Antibióticos*-aportan su colaboración en el desarrollo de algunos ésteres de penicilina, señalando, como uno de los éxitos de sus procedimientos, el poder ser llevados a cabo utilizando sólo materiales disponibles en nuestro país; en definitiva, la adecuación de procedimientos ya conocidos fuera de nuestras fronteras, leídos en clave autárquica (68).

Igual cariz muestra el número de registros de medicamentos anotados ante la Dirección General de Sanidad entre 1949 y 1956; los laboratorios de la *Compañía Española de Penicilinas y Antibióticos* (CEPA),

Antibióticos S.A., *Farmabiión, Dr. Andreu, Made, Alter, Dr. Esteve, Instituto Farmacológico Latino*, EFEYN e *Industrias Farmacéuticas Reunidas*, cobran aquí protagonismo (69). A estos hay que sumar las penicilinas registradas en España bajo fabricación, total o parcial, extranjera; en estos casos los laboratorios españoles se limitaban a envasar la materia prima, adquirida fuera de nuestras fronteras a un precio significativamente más barato que la de origen español (70).

En la primavera de 1954, sendas órdenes firmadas por el Ministro de Industria (71) autorizan a la *Compañía Española de la Penicilina y Antibióticos S.A.* y a *Antibióticos S.A.* para ampliar la capacidad de producción de sus fábricas de penicilina de Aranjuez y León hasta setenta y cinco millones de dosis de 100.000 unidades Oxford o su equivalente en otras dosis.

Para los años centrales de la década de 1950, el comercio de penicilina en España estaba asegurado; pero se abrió un nuevo frente, la fijación del precio y la solicitud del cese del oligopolio al que el producto estaba sometido. En febrero de 1955 (23/02) cinco laboratorios, con autorización de la Dirección General de Sanidad para comercializar medicamentos con penicilina y seleccionados por el Seguro Obligatorio de Enfermedad para el suministro de este producto, remitieron una carta abierta al diario *ABC* en defensa a la crítica de ‘dumping’ que CEPA y *Antibióticos* habían vertido frente a ellos; el escrito queda firmado por *Alter S.A.*, *Dr. Andréu S.A.*, *EFEYN*, *Farmabiión S.A.* e *Instituto Farmacológico Latino S.A.* (72); en él se introducen (tabla 4) los precios de cotización del mercado de la penicilina bruta en el mundo, tomando como unidad el ‘millón de unidades’:

Tabla 4. Precios de cotización del mercado de penicilina bruta [1.000.000 U.I.].

País	Precio
Estados Unidos	1,94 pesetas
Gran Bretaña	2,50 pesetas
Francia	2,65 pesetas
Alemania	2,77 pesetas
Italia	3,11 pesetas
España	15,00 pesetas

Su opción es clara: que se les permita el acceso a la materia prima fuera de nuestras fronteras, sin la obligación de tener que adquirirla a las empresas productoras españolas. No lo consiguieron, pero su denuncia sirvió de acicate para que algunos de estos laboratorios, los del grupo *Alter*, con *Farmabiión* al frente, consiguieran nuevas prebendas de las autoridades gubernativas. La empresa *Farmabiión* vio aumentada su capacidad para fabricar antibióticos en los inicios de 1956 (73).

En 1959 la *Compañía Española de Penicilinas y Antibióticos* era la tercera empresa farmacéutica española en capital social y en volumen de negocio; aún en 1968 su capital social declarado se estableció en 90 millones de pesetas y el censo obrero, repartido entre los dos centros

de trabajo (Aranjuez y Madrid) se elevaba a 751 trabajadores. Con la liberalización de la economía y la libre entrada de las industrias farmacéuticas extranjeras en el mercado de la farmacoterapia bacteriológica, CEPA iría perdiendo protagonismo de manera progresiva. Por su parte, *Antibióticos S.A.*, a mediados de los años setenta, era una de las diez primeras empresas farmacéuticas españolas, con una planta capaz de fabricar 500.000 kg de antibióticos, y en la que trabajaban más de un millar de personas (74).

7. AGRADECIMIENTOS

Financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España. Proyecto HAR 2013-42536-P.

8. REFERENCIAS

1. La Vanguardia Española, 11/03/1944: 6; ABC, 11/03/1944: 5, 8, 13.
2. La Vanguardia Española, 12/03/1944: 1; ABC, 12/03/1944: 34.
3. ABC, 07/10/1944: 19
4. ABC [Sevilla], 03/12/1944: 15.
5. La Vanguardia Española, 09/03/1945: 2.
6. La Vanguardia Española, 10/08/1947: 3.
7. Jiménez Casado M. Doctor Jiménez Díaz. Vida y obra. La persecución de un sueño. Madrid: Fundación Conchita Rábago de Jiménez Díaz 1993 (cf. pp. 347-355); González Núñez J., Orero González A. La penicilina llega a España: 10 de marzo de 1944, una fecha histórica. Revista Española de Quimioterapia 2007; 20(4): 446-450.
8. De vez en cuando, la prensa recoge alguna noticia relacionada con el mercado negro de este producto en nuestro país (La Vanguardia Española, 30/08/1945: 4); en ocasiones, también de las acaecidas fuera de nuestras fronteras (La Vanguardia Española, 21/04/1946: 8).
9. La ficha de encausado de Antonio Valls Conforto se conserva en el Centro Documental de la Memoria Histórica, signatura: 77/2729751.
10. González Juan P., Suñer Pi J., González F. Obtención de la penicilina y otras experiencias. Medicina Clínica 1944; 2: 473-482.
11. Peña A., Peña, E. Tratamiento por la penicilina de las formas de blenorragia resistentes a otras terapéuticas. Revista Clínica Española 1944; 15: 137-138.
12. González Jáuregui M. La penicilina. Estado actual de este problema. Anales de la Real Academia de Farmacia 1944; 10(1): 65-82.
13. Vicente Córdoba C. In memoriam. Florencio Bustinza Lachiondo (7-XI-1902 – 10-I-1982). Anales del Jardín Botánico de Madrid 1982; 39(1): 3-8; Bellot Rodríguez F. Don Florencio Bustinza Lachiondo. Botanica Complutensis 1982; 11: 9-15; Fonfría Díaz J., Calvo de Pablo P. Florencio Bustinza Lachiondo (1902-1982) y los antibióticos. In: González Bueno A., Baratas Díaz A. Eds. La tutela imperfecta. Biología y Farmacia en el primer franquismo. Madrid: CSIC 2013; pp. 295-340.
14. Mayor Zaragoza F. El valor de cada instante. In: Pascual-Leone A.M. Ed. Retroceso en el tiempo: la investigación biomédica en España. Testimonios y reflexiones: lecturas para el futuro. Madrid: Instituto de España / Fundación Ramón Areces 2012; pp. 107-140 (cf. p. 107).
15. Redondo Rincón G., González Bueno A. Penicilina para la España del primer franquismo (1944-1959). In: González Bueno A., Baratas Díaz A. Eds. La tutela imperfecta. Biología y Farmacia en el primer franquismo. Madrid: CSIC 2013; pp. 243-293.
16. Villanueva Vadillo V. El progreso de la industria farmacéutica española en el último decenio. Farmacia Nueva 1948; 13(137): 301-310.
17. La Vanguardia Española, 21/09/1944: 1, 9.
18. Orden de 04/11/1944, por la que se dan normas para el uso de 'penicilina' (BOE 08/11/1944). La prensa de la época se hizo eco de esta disposición: ABC, 09/11/1944: 8; ABC [Sevilla], 09/11/1944: 6.
19. Santesmases M.J. Distributing Penicillin: the clinic, the hero and industrial production in Spain, 1943-1952. In: Quirke V., Slinn J. Eds. Perspectives on Twentieth-Century Pharmaceuticals. Oxford *et al.*: Peter Lang 2010; pp. 91-117.
20. Información del Consejo. Boletín de Información - Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España 1945; 41: 32-34 (cf. p. 34).
21. Para algunos farmacéuticos se trataba de una situación injusta, pues entendían que era un servicio prestigioso y económicamente ventajoso, que deberían prestar todas las oficinas de farmacias que cumplieran con las normas establecidas por la Administración y no sólo las designadas arbitrariamente (cf. La distribución de penicilina. Farmacia Nueva 1946, 11(112): 244).
22. Volpone [Pío del Busto Medrano]. Un Reportaje de 'Volpone'. Hablando con la señorita Rosa Gómez. Encargada del Servicio de la Penicilina. Farmacia Nueva 1946; 11(108): 29-32.
23. La Vanguardia Española, 09/09/1945: 7.
24. La Vanguardia Española, 09/11/1944: 6; *Ibid.*, 31/07/1945: 4; *Ibid.*, 04/10/1945: 2.
25. ABC, 04/07/1945
26. La Vanguardia Española, 22/09/1945: 2. El precio fijado en 1944 para cada ampolla fue de 75 pesetas, en 1946 se había conseguido rebajar hasta 25 pesetas (cf. Rodríguez Nozal R. ¿Fortuna o desdicha? La entrada de la penicilina en la España de la autarquía, un nuevo desafío para la farmacia y la industria farmacéutica. In: González Bueno A. *et al.* Eds. Homenaje al Prof. Dr. José Luis Valverde. Granada: SDUHFE / Universidad de Granada 2011; pp. 515-550).
27. Precios oficiales para los artículos intervenidos ABC, 30/08/1945: 14; recoge los expresados en la Circular 511 de la Comisaría de Abastos y Transportes.
28. Las páginas de *La Vanguardia* informan de que se había detenido a un grupo estafadores que vendían la penicilina a un precio veinte veces superior a su valor: 100.000 unidades a 3.000 pesetas. La Vanguardia Española, 30/08/1945: 4. Sobre estafadores relacionados con el comercio de la penicilina cf. La Vanguardia Española, 20/12/1944: 11.
29. La Vanguardia Española, 26/09/1945: 2. El titular del Seguro era Severiano Fernández.
30. Orden de 30/12/1946, firmada el Director General de Sanidad, "por la que se autoriza la venta libre de aquellas cantidades de 'Penicilina' que no se considere indispensable para las atenciones de este

- Servicio, tanto en Madrid como en los depósitos instalados en provincias” (BOE 04/01/1947). Esta disposición fue ampliamente recogida por la prensa diaria (ABC, 04/01/1947: 13).
31. Rodríguez Nozal R. ¿Fortuna o desdicha? La entrada de la penicilina en la España de la autarquía, un nuevo desafío para la farmacia y la industria farmacéutica”. En: González Bueno, A. *et al.* Eds. Homenaje al Prof. Dr. José Luis Valverde. Granada: SDUHFE / Universidad de Granada 2011; pp: 515-550.
 32. ABC, 03/01/1947: 13.
 33. El sistema de distribución a través del Comité Nacional de la Penicilina tuvo como fecha de extinción el día 10 de febrero de 1947 (La Vanguardia Española, 02/02/1947: 4).
 34. Redondo Rincón G., González Bueno A. Penicilina para la España del primer franquismo (1944-1959). In: González Bueno A., Baratas Díaz A. Eds. La tutela imperfecta. Biología y Farmacia en el primer franquismo. Madrid: CSIC 2013; pp. 243-293 (cf. p. 260).
 35. Archivo Histórico de la Oficina Española de Patentes y Marcas [AHOPM], patente 169.274 “Procedimiento para la obtención de la penicilina y otras drogas medicinales, partiendo de microorganismos llamados hongos”; Madrid, 17/03/1945. La patente fue concedida el 20/03/1945. De las patentes de penicilina registradas en España se ha ocupado Romero de Pablos A. 2009. Penicillin patents in Spain. In: Romero A., Gradmann C., Santemases M. Eds. Circulation of Antibiotics: Journeys of Drug Standards, 1930-1970. [Madrid]: European Science Foundation 2009; pp. 229-249; pero en su estudio sólo abarca una docena de las patentes registradas por empresas extranjeras entre 1948 y 1950. De las patentes de penicilina registradas bajo capital español nos ocupamos en González Bueno A., Rodríguez Nozal R., Pérez Teijón C. La penicilina en España: difusión, propiedad industrial y negocio, en clave autárquica (1944-1959). *Estudios do Seculo XX* 2012; 12: 273-287.
 36. Rodríguez Jiménez J.L. El antisemitismo en el Franquismo y en la Transición. In: Álvarez Chillida G., Izquierdo Benito R. Eds. El antisemitismo en España. Cuenca: Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha 2007; pp. 245-271 (cf. pp. 253-254).
 37. Este método fue utilizado por algunas instalaciones hospitalarias para lograr conservar la actividad penicilínica durante un tiempo mayor del habitual, cf. Wainwright M. The history of the therapeutic use of crude penicillin. *Medical History* 1987; 31: 41-56.
 38. AHOPM, patente 177.419 “Procedimiento de estabilización de la penicilina para preparados de uso externo”; Madrid, 31/03/1947. Patente concedida el 30/06/1947 y publicada el 01/10/1947.
 39. AHOPM, patente 178.294 “Procedimiento de preparación de tabletas de goma de mascar, con penicilina incorporada”; Barcelona, 19/05/1947. Patente concedida el 02/06/1947 y publicada el 01/08/1947.
 40. AHOPM, patente 183.655 “Un procedimiento industrial de preparación de la penicilina, de forma que sea susceptible de poderse administrar por vía rectal”; Madrid, 11/05/1948. Patente concedida el 25/06/1948 y publicada el 01/11/1948.
 41. Castellanos Ruiz E. Patentes españolas sobre procedimientos de fabricación de medicamentos (1939-1959): una visión de la sanidad y de la industria farmacéutica española durante el período autárquico [Tesis doctoral dirigida por A. González Bueno]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid 2017.
 42. Una cuantificación en Redondo Rincón G., González Bueno A. Penicilina para la España del primer franquismo (1944-1959). In: González Bueno A., Baratas Díaz A. Eds. La tutela imperfecta. Biología y Farmacia en el primer franquismo. Madrid: CSIC 2013; pp. 243-296 (cf. pp. 250-251).
 43. Decreto de 01/09/1948, del Ministro de Industria y Comercio, Juan Antonio Suanzes y Fernández, “por el que se declara de ‘interés nacional’ la fabricación de penicilina y se abre un concurso, para llevarla a cabo, entre entidades españolas” (BOE 06/10/1948); de ella daría publicidad la prensa profesional (cf. Farmacia Nueva 1948, 13(141): 557-559). Una orden del Ministerio de Industria y Comercio, fechada en 4 de noviembre de 1948 (BOE 06/08/1948) aclara la convocatoria de un par de meses atrás: el producto que debía fabricarse era la bencil-penicilina cristalina, en su sal sódica pura.
 44. La Vanguardia Española, 10/09/1948: 2.
 45. Sobre Antonio Gallego cf. Rodríguez Nozal R. Uriach – Cambroner – Gallego. Farmacia e Industria. La producción de los primeros medicamentos en España. Madrid: Nivola 2004.
 46. Santemases M.J. Antibióticos en la Autarquía: banca privada, industria farmacéutica, investigación científica y cultura liberal en España, 1940-1960. Madrid: Fundación Empresa Pública 1999; Rodríguez Nozal R. Uriach – Cambroner – Gallego. Farmacia e Industria. La producción de los primeros medicamentos en España. Madrid: Nivola 2004.
 47. El consejo de administración de CEPA estaba formado por Antonio Basagoiti Ruiz, Ignacio Herrero Garralda, Antonio Robert Robert, Andrés Moreno García, Antonio Garrigues Díaz Cañabate, José Antonio Sangróniz Castro, José Luis Gallego Fernández, Eduardo Cros y Alfonso Urquijo y Landecho. El consejero delegado fue Antonio Robert Robert y el ingeniero director José Luis Mas Vicente. La dirección técnica quedó en manos de José Luis Mas y de Antonio Gallego Fernández, quienes se encargaron de montar las fábricas que habrían de construirse en Aranjuez (Paseo del Deleite) y Madrid (Méndez

- Álvaro, 57), aunque en la declaración censal ante el Sindicato Vertical de Industrias Químicas figuraba como director técnico José Luis Gallego Fernández (Archivo General de la Administración [AGA], sección Sindicatos, legajo (06) 34/14315).
48. Sánchez Domínguez M.Á. La política regional en el primer franquismo, los Planes Provinciales de ordenación económica y social. *Revista de Historia Industrial* 1999; 16: 91-112.
 49. Sobre el proceso de incautación de las empresas alemanas *cf.* Domínguez Vilaplana R., González Bueno A. La industria químico-farmacéutica alemana en España (1880-1949). *Llull* 2009; 32(70): 295-316.
 50. *La Vanguardia Española*, 01/12/1950: 3.
 51. Registros oficiales de laboratorios farmacéuticos. Dirección General de Sanidad. Archivo histórico de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, *Laboratorio Antibióticos S.A.*, registro: 2876.
 52. El primer consejo de administración de *Antibióticos S.A.* estaba formado por Jacinto Megías Fernández, Juan Abelló Pascual, José Fernández López, Fernando Abelló Pascual, Álvaro Gil Varela, José Jorro Pastor, Mauricio Lapiné Laplante (argentino), Gabriel Megías Boix, Francisco Rodón Queralt y Antonio Ruiz Falcó (AGA, sección Sindicatos, legajo (06) 34/14315).
 53. *La Vanguardia Española*, 11/12/1949: 5.
 54. *ABC*, 23/12/1948: 26.
 55. *ABC*, 05/02/1949: 13.
 56. *ABC*, 08/08/1950: 10.
 57. *La Vanguardia Española*, 09/08/1950: 3.
 58. Autorización a *Farmabión*, S.A. para ampliar su industria de fabricación de antibióticos (BOE 01/03/1956). Esta norma alude a una autorización anterior, de 26/05/1953, que no hemos podido localizar, a favor de *Farmabión* para fabricar penicilina en su fábrica de Pamplona. No es una casualidad que, en 1953, el único producto que pensarán fabricar *Farmabión* fuera 'Esterloven 500.000', un antibiótico broncopulmonar propiedad del laboratorio danés *Leo Pharmaceutical Products*, cedido por esta empresa a *Farmabión* para su comercialización en España mientras durara el contrato establecido entre ambas empresas.
 59. Bustinza F. Contribución a la historia de la penicilina. *Anales del Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal* 1946; 5: 151-159.
 60. Rodríguez Nozal R. ¿Fortuna o desdicha? La entrada de la penicilina en la España de la autarquía, un nuevo desafío para la farmacia y la industria farmacéutica". In: González Bueno A. *et als.* Eds. Homenaje al Prof. Dr. José Luis Valverde. Granada: SDUHFE / Universidad de Granada 2011; pp. 515-550.
 61. Bustinza F., Martínez Díaz J., Martínez Fornés S. Seis casos tratados con Leocillin (iodhidrato del éster dietil-amino-etílico de la bencilpenicilina). *Boletín del Instituto de Patología Médica* 1952; 7(3): 45-48.
 62. Orden de 24/01/1950, de la Dirección General de Sanidad, "por la que se autoriza en el Territorio Nacional la venta del medicamento Penicilina en todas las farmacias" (BOE 28/01/1950).
 63. Orden de 29/12/1956 "por la que se establece el sello de garantía de procedencia para los antibióticos" (BOE 03/01/1957); Orden de 25/03/1958 "por la que se dictan normas para la distribución y fijación de precios de los antibióticos" (BOE 28/03/1958).
 64. Con este título se solicitó, el 23/01/1952, el permiso de rodaje (Instancia de Carlos Rodríguez González, director general de *Producciones Iquino*, domiciliada en Barcelona, Marqués del Duero 106, dirigida al Director general de Cinematografía y Teatro. Barcelona, 23/01/1952. AGA, (03) 121.002, caja 36/04730). El permiso de doblaje fue obtenido el 18/06/1952 (AGA, (03) 121.002, caja 36/03429). La película fue estrenada en Barcelona, en el verano de 1952 (20/06), se exhibió en Madrid meses después, en marzo de 1953 (23/03) y, posteriormente se distribuyó por toda la geografía española.
 65. Anuario del Cine Español [1955]. Madrid: SNE (*cf.* p. 225).
 66. Hoy día es una película difícil de visionar, nosotros hemos consultado el ejemplar conservado en la Filmoteca Española [DV-02857]; queremos agradecer a José Luis Estarrona las facilidades para poder acceder a este largometraje. De él nos hemos ocupado en Rodríguez Nozal, R., González Bueno A. Mercado prohibido: antibióticos y contrabando en versión española. *Fotocinema* 2017; 15: 283-300.
 67. Los nuevos 'malos'. *Farmacia Nueva* 1950, 15(159): [s.p.].
 68. Castellanos Ruiz E. Patentes españolas sobre procedimientos de fabricación de medicamentos (1939-1959): una visión de la sanidad y de la industria farmacéutica española durante el período autárquico [Tesis doctoral dirigida por A. González Bueno]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid 2017.
 69. Redondo Rincón G., González Bueno A. Penicilina para la España del primer franquismo (1944-1959). In: González Bueno A., Baratas Díaz A. Eds. *La tutela imperfecta. Biología y Farmacia en el primer franquismo*. Madrid: CSIC 2013; pp. 243-293.
 70. Redondo Rincón G. El seguro obligatorio de enfermedad en España: responsables técnicos y políticos de su implantación durante el franquismo [Tesis doctoral dirigida por A. González Bueno]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid 2012.
 71. Orden del Ministerio de Industria, de 3 de mayo de 1954, por la que se autoriza a la Empresa Compañía Española de la Penicilina y Antibióticos S.A. para ampliar la capacidad de producción de su fábrica de penicilina de Aranjuez hasta setenta y cinco millones de dosis de cien mil U.I.O. o su equivalente en otras

dosis (BOE, 09/05/1954). En los mismos términos, y con la misma fecha se publica una orden similar para CEPA.

72. Alter SA – Dr. Andréu SA – EFEYN – Farmabión SA – Instituto Farmacológico Latino SA. Sobre el precio de la penicilina. Los laboratorios independientes sostienen que puede fabricarse y venderse más barato. ABC, 25/02/1955: 32-33.
73. Orden del Ministerio de Industria de 13/02/1956 (BOE, 01/03/1956).
74. Rodríguez Nozal R. ¿Fortuna o desdicha? La entrada de la penicilina en la España de la autarquía, un nuevo desafío para la farmacia y la industria farmacéutica. In: González Bueno A. *et al.* Eds. Homenaje al Prof. Dr. José Luis Valverde. Granada: SDUHFE / Universidad de Granada 2011; pp. 515-550.



Ordinances of apothecaries, Madrid, 1552

Title in Spanish: *Las ordenanzas de Madrid de boticarios de 1552*

Rosa Basante Pol^{1,*}

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

ABSTRACT: The institutionalization of Health in the Kingdom of Castile is linked, from the last quarter of the fifteenth century, to the creation of the Royal Tribunal of the *Protomedicato*, an institution through which the Royal Power will control the health professions. The jurisdiction and regulation of this institution, from 1523, allows only its action in the Court and five leagues from it, leaving the other aspects derived from it to the local courts that will exercise sanitary control. For that reason, the regulations dictated were important, being the Ordinances a significant manifestation of the Local Power. In the present work the Ordinances of Madrid of Apothecaries (*Ordenanzas de Madrid de Boticarios*) of 1552 are studied, and published for the first time, the repercussion of them derived for the Madrid apothecaries, and of other regions, and fundamentally for the Public Health..

RESUMEN: La institucionalización de la Sanidad en el Reino de Castilla va unida, a partir del último tercio del siglo XV, a la creación del Real Tribunal del Protomedicato, organismo a través del cual el Poder Real va a controlar a las profesiones sanitarias. La jurisdicción y regulación de dicha institución, a partir de 1523, permite solo su actuación en la Corte y a cinco leguas de ella, quedando los demás aspectos derivados de la misma a las justicias locales que ejercerán el control sanitario. Por ello fueron importantes las normas dictadas, siendo las Ordenanzas una significativa manifestación del Poder Local. En el presente trabajo se estudian, y se publican por primera vez, las *Ordenanzas de Madrid, de Boticarios, de 1552*, la repercusión de ellas derivadas para los boticarios madrileños, y de otras regiones, y fundamentalmente para la salud pública

***Corresponding Author:** rbasante@ucm.es

Received: January 23, 2018 **Accepted:** January 24, 2018

An Real Acad Farm Vol. 83, Nº 4 (2017), pp. 433-444

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el empleo de remedios, medicamentos, para prevenir, curar o paliar las dolencias de nuestros congéneres era la respuesta natural a una necesidad humana. De su elaboración y administración se encargaba, en las distintas culturas, arcaicas extintas o pervivientes, la persona más avezada, la conocedora de las propiedades de los distintos ingredientes, en función del concepto de salud y enfermedad, y de la terapéutica empleada de cada época acorde a las posibilidades del momento y a la sociedad de cada época, en el marco de los diferentes escenarios vitales.

La lógica evolución conlleva planteamientos y actuaciones coherentes a ella. En el mundo grecolatino las figuras de Hipócrates (s.IV a.C.), capaz de la racionalización de la Terapéutica, y Galeno (s.II d.C.), iniciador de la Farmacología racional y sintetizador del hipocratismo, encarnan la importancia de la lógica y la experiencia en el mundo del ejercicio médico.

Durante varios siglos el médico no solo diagnostica y prescribe sino que elabora, artesanalmente, los medicamentos necesarios para el paciente. En síntesis: Farmacia y Medicina fueron profesiones ejercidas por una misma persona en Europa hasta la Baja Edad Media en que

se promulga, para el reino de las Dos Sicilias, en 1240, *las Ordenanzas Medicinales*, del Rey Federico II¹, consideradas como la Carta fundacional de la Farmacia en el mundo, de alguna manera marco normativo de las disposiciones posteriores.

A partir de esta regulación la elaboración artesanal del medicamento es competencia de los boticarios, que no nacen como médicos especializados sino que estarán sometidos a la tutela científica de aquellos hasta la decimonovena centuria con la implantación de estudios normalizados, en los Reales Colegios de Farmacia, y la incorporación, en 1845, de la Farmacia a la Universidad.

Conviene recordar que inicialmente el ejercicio profesional farmacéutico responde a una estructura gremial, no diferente de las otras profesiones artesanales de cualquier país mediterráneo². Los boticarios se

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.199-200).

² Guillermo FOLCH JOU, Francisco Javier PUERTO SARMIENTO y FOLCH JOU, Francisco Javier. *El origen y evolución de las Corporaciones*. SARMIENTO. "Origen y evolución de las Corporaciones

agruparon, a partir del medioevo, en gremios y cofradías, origen de los Colegios de Boticarios, que nacen con fines más profesionales que de otro tipo y en los que el autogobierno y el control del ejercicio profesional eran características esenciales. Hemos de convenir, no obstante, que las corporaciones farmacéuticas en las que se admitían, inicialmente, a otros profesionales (especieros, tenderos, drogueros, médicos...) nacen primero en el Reino de Aragón, luego en el de Navarra y, finalmente, en el de Castilla.

La aparición del Estado Moderno, a caballo entre el último periodo del s. XV y los inicios del s. XVI, como manifiesta certeramente Feliciano Barrios, la unión de la Corona de Aragón y de Castilla y el fortalecimiento del Poder Real, proveniente de las Cortes de Toledo de 1480, hace necesaria la institucionalización de la Monarquía³, proceso que se desarrolla y arraiga durante el reinado de Carlos I (1516-1556). Este Poder Real es el que va a controlar a las profesiones sanitarias en la Corona de Castilla a través del Real Tribunal del Protomedicato.

Del precedente aserto se deduce que, respecto a los boticarios, la situación en Castilla fuese totalmente diferente, en la época estudiada, que en el Reino de Aragón, donde el control de nuestra profesión la ejercían, como ha quedado dicho, los Colegios de Boticarios: de Barcelona, Zaragoza.... Sin embargo en Madrid el Colegio de Boticarios aparece durante la Ilustración. Sus Estatutos y la consideración de institución real son aprobados en 1737⁴. Con anterioridad a esta fecha tampoco hubo gremio de boticarios y los boticarios madrileños se agrupan, junto a otros profesionales, en congregaciones, o cofradías, que eran asociaciones de laicos con vinculación administrativa del vicario eclesiástico y no de los poderes civiles⁵, cuyos

fines eran, generalmente, más benéfico-sociales que profesionales.

No es extraño, pues, el sometimiento administrativo-profesional de los boticarios madrileños, a partir del último tercio del medioevo, al Real Tribunal de Protomedicato. La regulación y jurisdicción del “poderoso” Tribunal a partir de 1523 permite su actuación solo en la Corte y a cinco leguas de ella, quedando los demás aspectos derivados de su jurisdicción a las instituciones locales, municipales, u otros organismos, aunque de él emanarán las diferentes disposiciones regulatorias, que dictarán los Monarcas reinantes en cada periodo histórico⁶.

En consecuencia serán fuera de la Corte y a cinco leguas de ella las justicias locales las que ejercerán el control sanitario, incluyendo las Visitas de Boticas⁷, de aquí la importancia de las normas dictadas a nivel local⁸, porque al no estar unificadas en todo el reino las actividades sanitarias los protomédicos regulan unilateralmente, y con excesiva frecuencia la descoordinación a nivel municipal es importante.

Es cierto que en el s. XVI hubo varios proyectos de ordenanzas generales que abarcasen todas las profesiones sanitarias, con el fin de regularlas en la Corona de Castilla, pero ni los Protomédicos ni los alcaldes mayores llegaron a un entendimiento.⁹

Academia Nacional de Farmacia. Madrid. Real Academia Nacional de Farmacia. Ed. 2012.(cf. pág. 21-42).

⁶ Cf. María Soledad CAMPOS GARCÍA. *El Real Tribunal del Protomedicato Castellano siglos XIV-XIX*. Selección Monografías. Universidad de Castilla la Mancha, Servicio de Publicaciones, 1999.

⁷ María Soledad CAMPOS GARCÍA trata este tema rigurosamente, manifestando que a partir de la Real Cédula de 15 de julio de 1639 dictada por Felipe IV respecto a las visitas de boticas hubo varias interferencias del poder central en la preminencia de las justicias locales. *Op. cit.* (cf. Pág. 99 y ss.)

⁸ A este respecto es muy interesante el trabajo de José Damián GONZÁLEZ ARCE. “Los Proyectos de Ordenanzas generales de médicos, cirujanos y boticarios de Castilla (ca. 1491-1513)”. *Dynamis* 0211-9536. 2011; 31(1):207-226. El autor resume que entre los años 1491-1513 fueron redactados tres proyectos de ordenanzas generales con el fin de regular los oficios sanitarios castellanos: médicos cirujanos y boticarios. Ninguno fue promulgado debido a las diferencias surgidas entre los protomédicos y los alcaldes mayores con competencias exclusivas en dichos oficios.

⁹ Además de los proyectos de ordenanzas referidos María Soledad CAMPOS GARCÍA en la obra referida manifiesta haber estudiado un borrador, de oficio, de ordenanzas para médicos, cirujanos de 1552, muy proliferas e interesantes que tampoco llegaron a publicarse. El documento conservado en el Archivo de Simancas recoge en 179 puntos todos los aspectos referentes a la regulación no solo de médicos y cirujanos sino también de barberos y

Farmacéuticas Españolas” Estratto dal N.2, agosto 1984 della rivista: *ATTI E MEMORIE DELLA ACCADEMIA ITALIANA DI STORIA DELLA FARMACIA*. (cf. pág. 1-19.)

³ Feliciano BARRIOS PINTADO. *El Consejo de Estado de la Monarquía Española*. Ed. Consejo de Estado. Madrid, 1984.(cf. pág. 29)

⁴ Este tema es tratado en el capítulo “El Real Colegio de Profesores Boticarios de Madrid” por Antonio GONZÁLEZ BUENO, Rosa BASANTE POL de su obra: *José Hortega (1730-1761) La pericia vital e intelectual de un boticario ilustrado*. Madrid: Instituto de Estudios Madrileños. 2015 (cf. pág. 48.93).

⁵ Los boticarios madrileños se agruparon, a partir de 16 de noviembre de 1589, en la Congregación del Señor San Lucas y Nuestra Señora de la Purificación, y en 1654 aparece otra nueva Congregación, la de Nuestra Señora de los Desamparados. Ambas se funden en 1721 en la Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y del Glorioso Evangelista San Lucas. Este tema es ampliamente tratado entre otros por: Antonio GONZÁLEZ BUENO y Rosa BASANTE POL. *Op. cit* (cf. pág.37-47), Javier PUERTO SARMIENTO. *Historia de la Real*

La promulgación de normas jurídicas de aplicación local, desde el s. XIII al XVIII, era potestativo tanto de la Corona como de los municipios a los que iban dirigidas, sin menoscabo de que en caso de concurrencia prevalecía siempre la de la Corona, siendo las ordenanzas “la manifestación más continua y prolongada de la autonomía de los poderes locales, a lo largo de medio milenio”¹⁰ y según Ladero Quesada *et al*, una importante fuente histórica y de investigación...

Coincidimos con el precedente aserto, de aquí nuestro interés en estudiar las Ordenanzas de Madrid para los Boticarios de 1552.

2. LAS ORDENANZAS DE MADRID, DE BOTICARIOS, DE 1552

Como ha quedado dicho la institucionalización de la Sanidad en Castilla va unida a la creación del Real Tribunal del Protomedicato, “organismo técnico de la administración central encargado de velar por la salud pública”¹¹ y que en Castilla en 1552 reinaba Carlos I, y la Corte no estaba en Madrid sino en Valladolid, por tanto la jurisdicción del Protomedicato, en la Corte y cinco leguas de ella, no abarcaba la villa de Madrid por lo cual había de delegar alguna de sus competencias a la corporación municipal; de aquí la importancia de las normas regulatorias de las corporaciones locales, lo cual no eximia del cumplimiento de las normas generales dictadas por aquel.

Nuestro maestro, D. Guillermo Folch, en sus clases, al hablar de la profesión en el s. XVI, y de las distintas disposiciones dictadas para regular el ejercicio profesional en dicho siglo, sucintamente, explicaba algunos aspectos de las “Ordenanzas de Madrid de 1552 para los Boticarios”, datos que recoge, igualmente, en su obra “Historia de la Farmacia”¹², excelente libro de texto para los estudiantes de farmacia, sin indicar fuente alguna al

boticarios, que de haberse promulgado hubiera sido una normativa regulatoria a nivel general en Castilla muy importante. Muchos de los aspectos recogidos en el referido borrador guardan gran similitud con las ordenanzas de Madrid de 1552 objeto de nuestro estudio. Agradezco a la Profesora Campos García su generosidad al facilitarme el texto íntegro, transcrito por ella, de ese importante documento conservado en el Archivo de Simancas.

¹⁰ Miguel Ángel LADERO QUESADA e Isabel GALÁN PARRA. “Las ordenanzas locales en la corona de Castilla como fuente histórica y tema de investigación (siglos XIII al XVIII)” en *Anales de la Universidad de Alicante. Historia Medieval*. N. 1 (1982) pp. 221-243. (cf. pág. 221-223)

¹¹ M. PARRILLA HERMIDA (1977) “Apuntes Históricos del Protomedicato”; antecedentes y organismos herederos”. *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, 94, 475- 515.

¹² Guillermo FOLCH JOU. *Historia de la Farmacia*. Madrid: 1972.(cf. pág. 208-209)

respecto. Lo mismo hace Javier Puerto Sarmiento.

Nuestra inquietud intelectual nos impulsó a realizar la correspondiente investigación en diferentes archivos madrileños, a fin de conocer lo que realmente disponían, amén de lo dicho por el Dr. Folch, y la repercusión de ellas derivadas para nuestra profesión y sobre todo para la salud pública en el periodo referido.

Tras ardua tarea de investigación, su localización en el Archivo de Villa¹³, y el vaciado del documento podemos publicarlo en su totalidad.

El documento transcrito dice así¹⁴:

[Cubierta del legajo: f.1 r.] (Figura 1).

Año de 1552. Acuerdo de Madrid y providencia dada en el año de 1552 por la qual se da regla de la forma en que los boticarios an de bender las mediçinas por la mala forma que en esto avía.

[Primer documento: f. 4 r-5 v].

En la villa de Madrid a veinte e nueve días del mes de enero año del nascimiento de nuestro salvador Jhesu Christo de mil e quinientos e cincuenta e dos años, estando en el ayuntamiento de la dicha villa en las casas que son en la plaça de San Salvador, según que lo an de uso e costumbre, los señores licenciado Céspedes de Oviedo, corregidor e juez de residencia en la dicha villa por su Magestad, y Diego de Vargas y don Juan Suárez, vezinos de la dicha villa, y ante mí el escribano e testigos yuso escritos.

Los dichos señores platicaron sobre la grand deshorden que los boticarios desta villa e su tierra tienen así en llevar preçios muy excesivos por las medicinas que venden como en hacer de las compuestas, y en vender medicinas muy añexas quando no tienen virtud, e que sus mujeres hijos e criados sin estar examinados ni saber lo que se hacen venden las dichas medicinas simples y compuestas e dan muchas vezes unas cosas por otras, de todo lo qual se siguen y pueden seguir grandes inconvenientes y es en perjuicio muy notorio de la respública, y para proveer con lo suso dicho lo que más convenga al servicio de Dios y de su Magestad para lo qual mandaron que los doctores del Mármol, Díaz y Santiago viniesen al ayuntamiento desta

¹³ Archivo de Villa. Sección 2. Legajo. 309-27

¹⁴ Transcripción realizada por Carlos Fernández González con la colaboración de Manuel Salamanca López. El legajo está compuesto por cinco documentos en letra procesal de diferentes manos que no están ordenados cronológicamente. En total son 10 folios con numeración moderna en la esquina superior derecha. Aquí se ha dispuesto cronológicamente para una mejor comprensión del conjunto documental. Hemos transcrito el texto respetando la grafía original, excepto a lo que respecta a las consonantes duplicadas, como rr- al principio de palabra y ll- al final, y a las abreviaturas, que han sido resueltas. Se ha modernizado la puntuación y la acentuación para una mejor comprensión del texto.

villa y, con su acuerdo y parescer venidos, hizieron y hordenaron las hordenanças siguientes.

Primeramente que el médico nombrado por el ayuntamiento desta villa y los regidores que residieren se junten cada mes una vez o las vezes que vieren que son necesarias y tassen todas las medicinas en precios justos conforme a los precios e costa dellas, dando ganancia moderada a los dichos boticarios, e si de la tal tasa se agraviaren, nombren otro médico los dichos boticarios para que se junte con los dichos regidores e médico y en presençia de la justicia se torne a reveer, y en lo que paresciere estar agraviados se desagruen, y cada boticario desta villa e su tierra sea obligado a tener un traslado de la tasa firmado de la justicia y regidores y médico, puesto en parte que lo puedan leer los que a su botica vinieren a comprar algo, so pena de seiscientos maravedís, el tercio para el denunciador y el tercio para los propios desta villa, para ayuda a pagar el salario del médico, y el tercio para el juez que lo sentenciare.

Y otrosí que todas las vezes que qualquiera de los dichos boticarios quisiere hazer algún compuesto, ansí laxativo como cordial, pólvoras, píldoras, xaraves, emplastos, azeytes compuestos e otras cosas sea obligado a hazerlo saber al dicho médico nombrado para que vea todas las medicinas simples de que se haze el dicho compuesto y en su presençia se junten las dichas medicinas, e tenga el dicho médico un libro e asiente por memoria el día, mes e año en que se hiziere cada una medicina compuesta, y la cantidad della, y qué boticario la hizo, y en el bote o caxa en que se pusiere lo firme el dicho médico puniendo como dicho es el mes e año en que se hiziere, y el boticario que lo contrario hiziere caya en pena de otros seiscientos maravedís según dicho es.

Ýtem que ninguna muger de boticario, hija, ni moza ni mozo, ni otra persona pueda dar ni vender a persona alguna medicina simple ni compuesta, de qualquier calidad que sea, y el oficial o criado que estuviere en la botica sin estar examinado por los protomédicos sea examinado en presençia de la justicia e regimiento desta villa, y de otra manera no pueda estar ni vender cosa alguna de la botica, so pena que el boticario cuya fuere cayga en pena de seiscientos maravedís por [tachado “el”] cada vez repartidos según dicho es.

Ýtem que los dichos boticarios o los que estuvieren en sus tiendas vendiendo no den medicina alguna purgativa ni opiata ni ponzoñosa, simple ni compuesta a persona alguna sin recepta de médico conoçida, y esto no se entiende de cañafístola o píldoras de regimiento o girapliega, ni de azúcar rosado ni de xaraves simples, como violado y rosado y otros, ni conservas cordiales, ni de otras conservas, como carne de membrillos y otras, y de unguentos e azeites simples, como rosado y de manzanilla y otros, ni de manojos de yerbas, como de manzanilla y eneldo y rosas, y otras cosas desta calidad porque muchas personas acostumbran esto en salud y dello no puede aver peligro y son cosas de poco presçio.

Otrosí que ningún tendero ni especiero pueda vender medicinas por menudo ni dar solimán ni azíbar sin licencia

de médico so la dicha pena repetida como dicho es.

Y desto todo que dicho es otorgaron petición para Su Magestad y señores de su Real Consejo en que suplican a Su Magestad mande confirmar las dichas ordenanças y proveer en ello lo que más a su servicio convenga. Y los dichos doctores lo firmaron de sus nombres. El doctor del Mármol. El doctor Díaz. El doctor Santiago.

De lo qual fueron testigos Juan de Riaño, cambiador, e Diego de Madrid, guarda, e Francisco de Torres, procurador, vezinos de Madrid. Va testado o diz da [palabra tachada] entre renglones o diz unguentos e. El licenciado Céspedes de Oviedo. Diego de Vargas. Juan Suares.

Yo, Gaspar Dávyla, escribano del dicho ayuntamiento de la dicha villa de Madrid, por Su Magestad fuy presente a lo que dicho es con los dichos testigos e lo fize signar e signé e fize aquí este mi signo [Signo]. Gaspar Dávyla.

[Segundo documento: f. 6 v] (Figura 2).

Don Carlos por la buena clemencia Magestad Inperator e Emperador Augusto, Rey de Alemania, doña Juana, su madre, y el mismo don Carlos por la mismo don Carlos [sic] por la misma graçia reyes de Castilla, de León, de Aragón, de las dos Siçilias, de Jherusalem, de Navarra, de Granada, de Toledo, de Valencia, de Galicia, condes de Barcelona, señores de Vizcaya y Molina, duques de Atenas e de Neopatria, e condes de Ruysellón y Cerdania, marqueses de Oristán e de Gorciano, Archiduques de Austria, condes de Flandes e de Tirol, etc. A vos, el mío corregidor o juez de residençia de la villa de Madrid o vuestro lugarteniente en el dicho officio, salud e graçia. Sepades que por parte del concejo, justicia, regidores de la dicha villa nos hizieron relación por su petición diziendo que para remedio de la deshorden que hasta agora ha avido en los ofiçios de boticarios de la dicha villa han hecho çiertas hordenanças muy útiles y provechosas al bien de la república y vezinos della, suplicándonos las mandásemos confirmar para que mejor sean guardadas, cumplidas e executadas o como la nuestra merced fuese. Lo qual visto por los del nuestro Consejo fue acordado que devíamos mandar dar esta nuestra carta para vos en la dicha razón, y nos tovímoslo por bien, por la qual vos mandamos que luego veáys lo susodicho y las dichas hordenanças que van firmadas de Francisco del Castillo, escribano de cámara de los que residen en el nuestro Consejo, y en el ayuntamiento de la dicha villa platiquéys y confiráis sobre esto y os ynforméys. E digáis si las dichas hordenanças son justas y buenas, y las penas en ellas contenidas moderadas, y si conbiene que se guarden y para este su hefecto se confirmen, y si dellas viene algún daño y perjuizio, y a quién y por qué causa y razón es de todo lo demás que les paresciere que acerca dello devamos ser ynformados, y la dicha ynformación avida y la verdad savida escripta en linpio, signada, çerrada y sellada en pública forma en manera que haga fee, y vuestro parescer de lo que en ello se debe prover la ynbiad al nuestro Consejo para que en él se vea y probea lo que sea justicia e no fagades ende ál por alguna manera so pena de la nuestra

merced y de diez mil maravedís para la nuestra Cámara. Dada en la villa de Madrid a xxiiij días del mes de febrero mil e quinientos y cinquenta y dos años. F. Patriarcha Siguntinus. El licenciado Galarça. El Doctor Amaya. El licenciado Hotalora. El doctor Castillo. El licenciado Arrieta.

Yo, Francisco de Castillo, escribano de Cámara de sus cesáreas y cathólicas magestades, la fize escribir por su mandado e con acuerdo de los de su Consejo.

El corregidor o juez de residencia de la villa de Madrid que en el ayuntamiento della platique y confiera sobre çiertas hordenanças que la dicha villa pide que se confirmen. El señor licenciado Montalvo. Corregidor [rúbrica]. [Línea final que no se puede leer, está cortada].

Registrada. Martín de Vergara [rúbrica].

Martín de Vergara por canceller.

Derechos III reales y medio. Registro: XXVII. Sello. XXX. Secretario Castillo [rúbrica].

[Tercer documento: f. 2 r y v].

En la villa de Madrid a tres días del mes de março de mile e quinientos e cinquenta e dos años, estando en el ayuntamiento de la dicha villa en las casas que son en la plaça de San Salvador, según que lo an de uso e costumbre, los señores corregidor licenciado Céspedes de Oviedo e Diego de Vargas e don Juan Suares e el doctor Gerónimo de Pisa e Pedro de Herrera, testigos. [En el margen izquierdo:] Está confirmado por la hoja deste plyego.

E el dicho doctor Mármol dixo que él a visto las dichas ordenanzas que le fueron leydas e dixo que, antes que la villa las ordenase, las vio e se halló a la ordenaçión dellas e que le paresçe que son justas e buenas e muy neçarias e para bien de la república, e que las penas en ellas contenidas son muy moderadas e le paresçe que convernía poner mayores penas e que conviene que se guarden e executen e Su Magestad las puede confirmar e de la confirmaçión viene provecho a la república, e no daño ni perjuizio. E esta es la verdad para el juramento que hizo e lo firmó de su nombre en las dichas ordenanzas firmadas del secretario Castillo e signadas del dicho Gaspar Dávyla, escribano susodicho. El doctor del Mármol [rúbrica].

Y el dicho doctor Santiago dixo que él vido las dichas ordenanzas [texto tachado] que por el dicho escribano le fueron leydas delante, e dixo que antes que esta villa las hiziese e ordenase las vio el dicho doctor Santiago e se halló a la hordenaçión dellas, e que le paresçe que son buenas e justas e muy necessarias para el bien desta villa e su tierra, e las penas en ellas contenidas son moderadas e antes le paresçe que convernía poner mayores penas, e conviene que se guarden e executen, e que Su Magestad las puede así confirmar, e de la confirmaçión viene provecho a la república desta dicha villa e su tierra, e non viene ningún daño ni perjuizio. E esta es la verdad para el juramento que hizo e firmolo de su nombre en las dichas ordenanzas firmadas del secretario Castillo e signadas del dicho Gaspar Dávyla, escribano susodicho. El doctor

Santiago [rúbrica].

El dicho Dotor Díaz dixo que él tiene vistas las dichas hordenanças que le fueron leydas e firmadas del secretario Castillo y sygnadas de Gaspar Dábila, escribano del ayuntamiento desta villa, y dixo que quando esta billa hizo las dichas hordenanças llamaron a este testigo y se halló presente juntamente con el dotor Mármol y Santiago y fue en hordenallas juntamente con los dichos doctores, y que le paresçe que son buenas e justas y muy neçarias a la república y bien desta villa y su tierra, y le pareçe que las penas son muy justas y moderadas y que si eçediesen de las dichas hordenanças mereçen mucha mayor pena que por las hordenanças se les da, y conbiene que sean guardadas y executadas las dichas hordenanças y que es muy justo que Su Magestad las mande confirmar, porque de la confirmaçión viene mucho provecho a la república desta dicha villa y su tierra, e no viene daño ni perjuizio dello. Y esta es la verdad para el juramento que hizo e firmolo de su nombre. El doctor Díaz [rúbrica].

El licenciado Pedro de Torres, médico e cirujano vezino de la dicha villa, testigo jurado en forma debida de derecho, siéndole leydas y mostradas las dichas hordenanças dixo que le pareçe que es cosa muy justa y neçaria que se guarden y executen porque dello viene mucha utilidad y provecho a la república desta villa y su tierra, y que las que no las guardasen mereçían mucha mayor pena de lo contenido en las dichas hordenanças, las quales dichas penas le paresçe a este testigo que son bien moderadas y es muy justo que se guarden y executen y que se suplique a Su Magestad las confirme para que mejor sean guardadas, y que esto le pareçe para el juramento que hizo y firmolo de su nombre. Pedro de Torres [rúbrica].

[Cuarto documento, f. 3 r].

En la villa de Madrid a tres días del mes de março de mil e quinientos e cinquenta e dos años, estando en el ayuntamiento de la dicha villa en las casas que son en la plaça de San Salvador, segund que lo an de uso e costumbre, los señores licenciado Céspedes de Oviedo, corregidor en la dicha villa por su magestad, e Diego de Vargas e don Juan Suares e el doctor Gerónimo de Pisa e Pedro de Herrera, regidores, estando en el dicho ayuntamiento el doctor del Mármol e el doctor Díaz e el doctor Santiago, médicos vecinos de la dicha villa, e ante mí, el escribano e testigos infraescritos, el dicho señor corregidor presentó en el dicho ayuntamiento, e las hizo por mí el dicho escribano, una carta e provisión de Su Magestad, sellada con su sello e librada de los señores de Su Magestad en el Consejo su [tachado], la qual es dada en Madrid a veinte quatro días de hebrero de quinientos e cinquenta e dos años, por la qual Su Magestad manda al corregidor de la dicha villa que en el [texto tachado] ayuntamiento della platique sobre çiertas ordenanzas del oficio de los boticarios que la dicha villa pide que se confirmen, e así mesmo presente çiertas ordenanzas signadas de mí, el dicho escribano, e firmadas del secretario Castillo que van originalmente con este testimonio. E así presentada, leyda e notificada la dicha

por el dicho señor corregidor dixo que mandava e mando a los susodichos en esta villa en el dicho ayuntamiento que platicuen e confieran sobre lo en ella contenýdo e den sus paresçeres. E luego los dichos señores regidores dixerón que para mejor ynformarse an hecho llamar a los dichos médicos que presentes estavan, que el dicho señor corregidor reçiba dellos juramento e cargo del qual les mande que digan sus razones e paresçeres sobre lo susodicho. E luego el dicho señor corregidor reçibió juramento por Dios nuestro Señor e sobre la señal de la Cruz en que pusieron sus manos derechas de los dichos doctores médicos, e de cada uno dellos que dirían verdad e sus paresçeres bien e justa e verdaderamente de lo que supieren e los paresçeres sobre lo [palabra tachada: susodicho] contenido en la dicha carta de Su Magestad e ordenanzas susodichas, e en la verdad dixerón Dios nuestro Señor les ayude e al contrario, haziéndoselo, demande como aquellos que a sabiendas se perjuran, los quales hizieron el dicho juramento e dixerón sí, juramos, e amén e dixerón lo siguiente. Aquí el dicho de los tres médicos.

E luego el dicho día tres de março del dicho año en el dicho ayuntamiento los dichos señores regidores de una conformidad dixerón que les paresçe que las dichas ordenanzas, que están firmadas del dicho secretario Castillo e sygnadas de mí, el dicho Gaspar Dávila, escribano del dicho ayuntamiento, son buenas e justas e neçesarias para el bien e provecho común de la dicha villa e su tierra, e que las penas en ellas contenida son moderadas e que conviene que se guarden e Su Magestad las confirme porque son provechosas e sin perjuizio, e pidieron al dicho señor corregidor mande tomar su dicho e paresçer a Pedro de Torres, médico e cirujano, vecino de la dicha villa, sobre lo susodicho, de lo qual fueron testigos Francisco Díaz e Francisco de Tapia e Christóval de Ayllón, vecinos de Madrid.

En la dicha villa de Madrid a nueve días del mes de abril del dicho año de mil e quinientos e cinquenta e dos años por mandado del dicho señor corregidor fue reçibido juramento por Dios nuestro Señor e sobre la señal de la Cruz en que puso su mano derecha del dicho Pedro de Torres, médico e çirujano, e por la verdad dixese Dios Nuestro Señor le ayudase, e al contrario haziéndoselo, demandase como aquel que a sabiendas se perjura, el qual hizo el dicho juramento en forma e dixo sí, juro, e amén e dixo lo siguiente. Aquí el dicho de Pedro de Torres.

[Quinto documento, folios 7 r-10 v. Se vuelven a copiar los textos y a completar las partes que estaban incompletas] (Figuras 3 y 4).

En la villa de Madrid a veynte e nueve días del mes de henero, año del nascimiento de nuestro salvador Jhesu Christo de mil e quinientos e cinquenta e dos años, estando en el ayuntamiento de la dicha villa en las casas que son en la plaça de San Salvador según que lo an de uso e costumbre, los señores licenciado Céspedes de Oviedo, corregidor e juez de resydençia en la dicha villa por Su Magestad, y Diego de Vargas y don Juan Suares, vecinos

de la dicha villa, y ante mí, el secretario e testigos yuso escritos.

Los dichos señores platicaron sobre la gran desorden que los boticarios desta villa e su tierra tienen ansy en llevar preçios muy excesivos por las medicinas que venden como en hazer de las compuestas, y en vender medicinas muy añejas quando non tienen virtud, en que sus mujeres, hijos e criados sin estar esaminados ni saber lo que se hacen venden las dichas medicinas simples y compuestas y dan muchas vezes unas cosas por otras, de todo lo qual se sigue y pueden seguir grandes ynconvinientes y es en perjuizio muy notorio de la respública. Y para proveer en lo susodicho lo que más convenga al servicio de Dios y de Su Magestad para lo qual mandaron que los doctores del Mármol, Díaz y Santiago viniesen al ayuntamiento desta villa y, con su acuerdo y parecer venidos, supieron y hordenaron las hordenanças siguientes.

Primeramente que el médico nombrado por el ayuntamiento desta villa y los regidores que residieren se junten cada mes una vez o las vezes que vieren que son necesarias y tasen todas las medicinas en preçios justos, conforme a los preçios e costa dellas, dando ganancia moderada a los dichos boticarios. E si de la tal tasa se agraviaren nonbren otro médico los dichos boticarios para que se junte con los dichos regidores e médico y en presencia de la justicia se torne a reveer, y en lo que paresçiere estar agraviados se desagraven, y cada boticario desta villa e su tierra sea obligado a tener un traslado de la tasa firmado de la justiçia y regidores y médico puesto en parte que lo puedan leer los que a su botica vinieren a comprar algo, so pena de seyscientos maravedís, el terçio para el denunciador y el terçio para los propios desta villa para ayudar a pagar el salario del médico, y el terçio para el juez que lo sentenciare.

Y otrosí que todas las vezes que qualquiera de los dichos boticarios quisiere hazer algún conpuesto así laxativo como cordial, pólvoras, píldoras, xaraves, enplastos, azeytes compuestos e otras cosas sea obligado a hazerlo saber al dicho médico nonbrado para que vea todas las mediçinas simples de que se haze el dicho conpuesto, y en su presençia se junten [palabra tachada] las dichas mediçinas y tenga el dicho médico un libro e asiente por memoria el día, mes y año en que se hiziere cada una mediçina conpuesta y la cantidad della, y qué boticario la hizo y en el bote o caxa en que se pusiere lo firme el dicho médico puniendo como dicho es el mes y año en que se hiziere, y el boticario que lo contrario hiziere caya en pena de otros seyscientos maravedís, según dicho es.

Yten que ninguna muger de boticario, hija ni moça ni moço ni otra persona pueda dar ni vender a persona alguna mediçina simple ni conpuesta de qualquier calidad que sea, ni el ofiçial o criado que estuviere en la botica sin estar examinado por los protomédicos sea esamynado en presençia de la justicia y regimiento desta villa y de otra manera no pueda estar ni vender cosa alguna de la botica, so pena que el boticario cuya fuere cayga en pena de seisçientos maravedís por cada vez repartidos según dicho es.

Yten que los dichos boticarios o los que estuvieren en sus tiendas vendiendo no den medicina alguna purgativa ni opiata ni ponçoñosa simple ni conpuesta a persona alguna sin reçebta de médico conoçido y esto no se entiende de canafístola o pílđoras de regimiento o girapliega ni de açúcar rosado ni de xaraves simples, como violado y rosado y otros, ni conservas cordiales ni de otras conservas, como carne de membrillos y otras, y de unguentos e azeites simples, como rosado y de mançanilla y otros, ni de manojos de yerbas, como de mançanilla y eneldo y rosas, y otras cosas desta calidad porque muchas personas acostumbran esto en salud y dello no puede aver peligro y son cosas de poco preçio.

Otrosí que ningún tendero ni espeçiero pueda vender medicinas por menudo ni dar solimán ni açfbar sin licencia de médico, so la dicha pena repartida como dicho es.

Y desto todo que dicho es otorgaron petición para Su Magestad y señores de su Real Consejo en que suplican a Su Magestad mande confirmar las dichas hordenanças y proveer en ello lo que más a su serviçio convenga. Y los dichos doctores lo firmaron de sus nonbres. El doctor del Mármol. El doctor Díaz. El doctor Santiago.

De lo qual fueron testigos Juan de Riaño, cambiador, y Diego de Madrid, guarda, e Francisco de Torres, procurador, vecinos de Madrid. El licenciado Céspedes de Oviedo, Diego de Vargas, don Juan Suárez. Va testado o diz todas e entre renglones o diz dichas. E yo, Gaspar Dávyla, escribano del dicho ayuntamiento de la dicha villa de Madrid por Su Magestad, fuy presente a lo que dicho es con los dichos testigos e lo fize escribir e fize aquí este mío signo. [Signo]. Gaspar Dávyla. Castillo [rúbrica].

En la villa de Madrid a tres días del mes de março de mile e quinientos e çinquenta e dos años estando en el ayuntamiento de la dicha villa en las casas que son en la plaça de San Salvador, según que lo an de uso e costumbre, los señores licenciado Çéspedes de Oviedo, corregidor en la dicha villa por Su Magestad, e Diego de Vargas e don Juan Suárez e el dotor Gerónimo de Pisa e Pedro de Herrera, regidores, e estando en el dicho ayuntamiento con el dotor del Mármol e el dotor Díaz e el dotor de Santiago, médicos vecinos de la dicha villa, e ante mí, el escribano e testigos ynfraescritos, el dicho señor corregidor presentó en el dicho ayuntamiento e la hizo por mí, el dicho escribano, una carta e provisión de Su Magestad, sellada con su sello e librada de los señores deste ayuntamiento al Real Consejo, la qual es dada en Madrid, a beynte e quatro días de febrero de quinientos e çinquenta e dos años. Por la qual su Magestad manda al corregidor de la dicha villa que en el ayuntamiento de la [texto tachado] platiquen sobre ciertas [tachado] hordenanças del oficio de los boticarios que en la dicha villa pide que se confirmen.

Y ansí mesmo presentó çiertas hordenanças signadas de mí, el dicho escribano, e firmadas del secretario Castillo, que van originalmente con este testimonio de verdad. E ansí presentada, leyda e notificada la dicha carta el dicho señor corregidor dixo que mandava e mando a los suso dichos que estaban en el dicho ayuntamiento que

platiquen e confieran sobre lo en ella contenido e den sus paresçeres. E luego los dichos señores regidores dixerón que para mejor ynformarse an hecho llamar a los dichos médicos que presentes estaban, que el dicho señor corregidor reçiba dellos juramento so cargo del qual les mande que digan sus dichos e paresçeres sobre lo suso dicho. E luego el señor corregidor reçibió juramento por Dios [tachado: "e"] Nuestro Señor sobre la señal de la Cruz en que pusieron sus manos derechas de los dichos doctores médicos, e de cada uno dellos que dirían verdad e sus paresçeres bien e justa e verdaderamente de lo que supieren e los paresçeres sobre lo contenido en la dicha carta de su Magestad e ordenanças susodichas, e si la verdad dixerén Dios Nuestro Señor les ayude, de lo contrario, haziéndoselo demandar como aquellos que a sabiendas se perjuraron, los quales hizieron el dicho juramento e dixerón sí, juramos, e amén e dixerón lo siguiente .

El dicho doctor Mármol dixo que él a visto las dichas hordenanças que le fueron leydas e dixo que, antes que la villa las ordenase, las vio e se halló a la ordenaçión dellas, e que le paresçe que son justas e buenas e muy nesçesarias para bien de la república e que las penas en ella contenidas son muy moderadas, e que le paresçe que convernía poner mayores penas e que conviene que se guarden e executen. E Su Magestad las puede confirmar e de la confirmaçión viene provecho a la república, e no daño ni perjuizio. E esta es la verdad para el juramento que hizo e lo firmó de su nombre sobre las dichas hordenanças, firmadas del secretario Castillo e signadas del dicho Gaspar de Ávila, escribano susodicho, e el doctor del moral [sic].

Y el dicho doctor Santiago dixo que él vido las dichas ordenanças que por el dicho escribano le fueron leydas e dixo que, antes que esta villa las hiziese e ordenase, las vio el dicho dotor Santiago e se halló a la hordenaçión dellas, e que le paresçe que son buenas e justas e muy nesçesarias para el bien desta villa e su tierra e las penas en ella contenidas son moderadas, e antes le paresçe que convernía poner más y mayores penas, e conviene que se guarden e executen. E que Su Magestad las puede confirmar e de la confirmaçión viene provecho a la república desta dicha villa e su tierra, e no viene ningund daño ni perjuizio. E esta es la verdad para el juramento que hizo e firmolo de su nombre. Son las dichas hordenanças firmadas del secretario Castillo e signadas del dicho Gaspar de Ávila, escribano susodicho. El dotor Santiago.

El dotor Díaz dixo que él tiene vistas las dichas hordenanças que le fueron leydas e firmadas del secretario Castillo e sinadas de Gaspar de Ávila, escribano del ayuntamiento desta villa. E dixo que quando esta billa hizo las dichas hordenanças llamaron a este testigo y se halló presente juntamente con el dotor Mármol y Santiago, e fue en hordenallas juntamente con los dichos doctores, e que le paresçe que son buenas e justas e muy nesçesarias a la república y bien desta villa y su tierra, y le paresçe que las penas son muy justas e moderadas e que si eçediesen de las dichas hordenanças mereçen mucha más pena que por

las hordenanças se les da, y conviene que sean guardadas y executadas las dichas hordenanças y que es muy justo que Su Magestad las mande confirmar, porque de la confirmación viene mucho provecho a la república desta dicha villa e su tierra, e no viene daño ni perjuizio dello y esta es la verdad para el juramento que hizo e firmolo de su nombre. El dotor Díaz.

E luego el dicho día tres de março del dicho año en el dicho ayuntamiento los dichos señores regidores de una conformidad dixeron que les paresçe que las dichas hordenanças que están firmadas del dicho secretario Castillo e sinadas de mí, el dicho Gaspar de Ávila, escribano del dicho ayuntamiento, son buenas e justas e nesçesarias para el bien e provecho común desta dicha villa e su tierra, e que las penas en ellas contenidas son moderadas e que conviene que se guarden e Su Magestad las confirme, porque son provechosas e sin perjuizio. E pidieron al dicho señor corregidor mande tomar su dicho e paresçer a Pedro de Torres, médico e çirujano, vecino de la dicha villa, sobre lo su sodicho, de lo qual fueron testigos Francisco Díaz e Francisco de Tapia e Christóval de Ayllón, vecinos de Madrid.

En la dicha villa de Madrid a nueve días del mes de abril del dicho año de mil y quinientos y çinquenta e dos años, por mandado del dicho señor corregidor fue reçibido juramento por Dios nuestro señor e sobre la señal de la Cruz en que puso su mano derecha del dicho Pedro de Torres, médico e çirujano, e que si la verdad dixere Dios Nuestro Señor le ayudase e, al contrario haziéndoselo, demandase como si aquel que a sabiendas se perjura, el qual hizo el dicho juramento en forma e dixo, sí, juro, e amén, e dixo lo siguiente.

El licenciado Pedro de Torres, médico vezino de la dicha villa, testigo jurado en forma debida de derecho, siéndole leydas y mostradas las dichas hordenanças dixo que le paresçe que es cosa justa e nesçesaria que se guarden y executen porque dello viene mucha utilidad y provecho a la república desta villa y su tierra, y que las que no las guardasen mereçien mucha más pena de la contenida en las dichas hordenanças, las quales dichas penas le paresçen a este testigo que son bien moderadas y es muy justo que se guarden y executen, y que se suplique a Su Magestad las confirme para que mejor sean guardadas, y que esto le paresçe para el juramento que hizo y firmolo de su nombre. Pedro de Torres.

[En el folio 3 v, en un lateral en vertical: “boticarios”. En el folio 6 r: “hordenanças de los boticarios 1552”].

3. COMENTARIOS

Las competencias de los boticarios han sido y son, primordialmente, la elaboración artesanal o industrial de los medicamentos, su conservación y dispensación. Del buen estado de sus preparaciones depende la salud de las personas a las que les son administradas, de aquí la responsabilidad de un profesional sanitario cual el boticario. La existencia de normas regulatorias es un aval para toda la sociedad.

En la época estudiada, 1552, en un Madrid¹⁵ con no más de 8000 habitantes, importante villa de la Corona de Castilla, zona de paso con gran valor estratégico, con un gran desarrollo en el mercado principalmente de abastos, con gran variedad en oficios y profesiones, en el que la especialización artesanal es evidente, ocupando los oficios, los del cuero y los textiles, por ejemplo, un importante papel, ciudad floreciente en vías de expansión y modernización, con Corte itinerante, aun cuando la Corte residiera en Valladolid, y años más tarde, 1561, por voluntad del Rey Prudente, se instala en Madrid, en ese núcleo urbano los boticarios desempeñan un importante papel.

En 1552 se dictan unas ordenanzas¹⁶, modo de regular la vida cotidiana, para reglamentar uno de los oficios más numerosos, los del cuero, es un modo de ordenar y dinamizar una importante actividad en la que la economía y salubridad pública han de ser tenidas en cuenta.

Guarda tal vez un cierto paralelismo que en ese mismo año se dicten unas ordenanzas de la forma en que los boticarios han de vender las medicinas por “la mala forma que en esto había”, norma importante tanto desde los aspectos económicos como los sanitario-profesionales, no todos los boticarios tendrían mala praxis, pero tal vez la falta de normas permitía excesos nada loables que era necesario corregir. Por ello, velando siempre por la protección de la salud, las normas eran necesarias.

Las ordenanzas referidas se redactan por médicos a instancia de los vecinos, representados por Diego de Vargas y Juan Suarez, que el 29 de enero de 1552 se reúnen en el ayuntamiento madrileño con el Corregidor y juez, Céspedes de Oviedo, para manifestarle su descontento por el precio excesivo de las medicinas y el mal estado que con excesiva frecuencia se venden, y además porque las mujeres, los hijos y los criados del boticario sin estar examinados venden las medicinas sin saber lo que venden ni el estado en que se encuentran lo cual es perjudicial para la “res pública”.

En síntesis, intrusismo profesional, mala praxis, y excesivos precios de los medicamentos son los argumentos erigidos para demandar una regulación para los boticarios, cuya práctica ha de estar avalada no solo por unos conocimientos sino por un examen ante la autoridad

¹⁵ Cf. Antonio FERNÁNDEZ GARCÍA.(Director). *Historia de Madrid*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Estudios Madrileños, 2007.

¹⁶ Cf. *La premática que su Majestad ha mandado hacer este año de mil quinientos çinquenta y dos para el remedio de la gran carestía que había en el calzado y cómo se ha de vender por puntos y qué precios ha de valer los cueros, vacunos y la dozena del cordován y badanas y para que los zapateros y obligados a las carnicerías puedan ser curtidores*. El texto se puede consultar en la Universidad de Salamanca. Fondo Antiguo de Universidades. Colecciones singulares.

competente. Ayer y hoy el boticario un profesional sanitario lo que prestigia su labor.

Ante tal petición se encarga a los Doctores Mármol, Díaz y Santiago la redacción de las Ordenanzas cuyos aspectos, a mi juicio, más importantes son:

1ª. Obligación de tasar una vez al mes, o las que fuesen necesarias, las medicinas a precios justos, teniendo en cuenta los costes de los simples, materias primas en terminología actual, y el beneficio profesional, “moderado” para el boticario; es decir establecer el precio al que habían de venderse los medicamentos¹⁷. La tasación había de realizarla un médico nombrado por el ayuntamiento y el corregidor de la villa, lógico pues no era otra cosa que dar cumplimiento a las normas del Real Tribunal del Protomedicato. Los tasadores, reiteramos, tendrían en cuenta la ganancia del boticario por su labor artesanal, pero si los boticarios no estaban de acuerdo se les permitía nombrar al médico tasador, es decir el boticario tenía su influencia.

2ª. Exhibición de la tasación, tarifa en definitiva, en un lugar visible de la botica para que pudiera ser vista por los que a ella acudían a solicitar medicinas. El no cumplimiento de esta norma estaba penalizado con la multa de seiscientos maravedíes, importe que se distribuía en tres tercios del modo siguiente: un tercio para el denunciante, otro para los vecinos de la villa, que destinarían a pagar al médico, y el otro para el juez que dictase la sentencia.

3ª. Tutela científica de los médicos sobre los boticarios. En esta época y hasta bien entrado el s. XVIII los boticarios estuvimos sometidos, en la Corona de Castilla, a las normas del R.T. P. El Protofarmacéutico se crea en 1780, Real Cédula de 13 de abril, y uno de los mayores cambios para nuestra profesión, en cuanto a la forma de regirse, se produce en el s. XIX con la publicación, en 1800, de *la Concordia y Reales Ordenanzas para el Régimen y Gobierno de la Facultad de Farmacia*.

No es extraño que en 1552 para la elaboración de medicinas compuestas se exigiese la presencia del médico nombrado a tal fin, que revisaría los simples y el “método operatorio” algo sobradamente conocido. Tal vez la novedad en este punto, de las Ordenanzas estudiadas, es que el médico había de anotar en un libro el día, mes y año en el que se elaboraba cada medicina compuesta, así como la cantidad de la misma, que el boticario guardaría en el correspondiente recipiente que también había de estar firmado por el médico. Con las distancias propias que el tiempo y la historia exige ¿no podríamos encontrar en este punto un antecedente del libro recetario y del control de calidad de los medicamentos? Tal vez evocando a Albert

¹⁷ En la actualidad en España para garantizar, básicamente, la financiación pública de los medicamentos la fijación del precio de los mismos compete al Estado, siendo las autoridades sanitarias las que lo establecen teniendo en cuenta, entre otros factores, el beneficio profesional del farmacéutico.

Einstein “la realidad es simplemente una ilusión aunque una muy insistente”.

4ª Que la mujer no estuviese en la botica. Este tema es coincidente en todas las normas, esta y las posteriores, hasta finales del s. XIX¹⁸. Simplemente decir que las mujeres en España hemos accedido a nuestra profesión a finales del referido siglo¹⁹, y no solo en nuestro país, en Estados Unidos, por ejemplo, la primera graduada en Farmacia fue Mary C. Putman, que curiosamente nunca ejerció la profesión²⁰.

5ª. Obligatoriedad de que todo el que esté en la botica esté examinado, de no hacerlo la responsabilidad es del boticario propietario de la botica que además si incumple la norma pagará, de penalización, seiscientos maravedíes. Es importante este tema porque quizás fuere el inicio de la regulación para los mancebos²¹. El texto así lo exige: “El oficial o criado que estuviere en la botica sin estar examinado por los Protomédicos sea examinado en presencia de la justicia e regimiento desta villa y de otra manera no pueda estar ni vender cosa alguna de la botica so pena que el boticario cuya fuere caiga en la pena de seiscientos maravedíes”.

Varios siglos han pasado desde la promulgación de las Ordenanzas, pero tienen tanta frescura que hoy por hoy en las Oficinas de Farmacia, obligatoriamente, mientras estén abiertas al público habrá un boticario. El incumplimiento acarrea una sanción monetaria también.

6ª. Necesidad de receta médica para dispensar

¹⁸ Todos los borradores y disposiciones del Real Tribunal del Protomedicato, por uno u otro argumento, limitan a la mujer el ejercicio profesional farmacéutico. En la Real Cédula de 15 de julio de 1639 de Felipe IV al referirse a las Visitas de Boticas, cuando el boticario hubiese fallecido, puede leerse: “si el sucesor fuese mujer o menor de edad puede nombrar un boticario aprobado hasta que se casare...”

Es decir no podía quedarse ella con la botica pero se le ayuda para subsistir. En otras disposiciones ocurre lo mismo. Otro ejemplo En la *Recopilación de la Leyes, Pragmáticas, Decretos y acuerdos del Real Tribunal del Protomedicato*, publicado en Valencia en 1751 por Eugenio MUÑOZ, expresamente dice que “Las mujeres no tengan boticas”. (cf. pág. 177).

¹⁹ Cf. Rosa BASANTE POL. *Farmacia y Mujer*. (Discurso leído el 11 de octubre del año 2000 con motivo de su ingreso como académica de número de la Real Academia de Doctores de España). Madrid, 2000.

²⁰ Rosa BASANTE POL. *Op cit.* (cf. pág.27)

²¹ En la obra de Eugenio Muñoz antedicha se ocupa un capítulo de las obligaciones de los mancebos. *Op. cit.* (cf. pág. 177 y ss).

Además cuando en 1755 se crea el Real Jardín Botánico de Madrid, institución sanitaria al servicio de la Corona, los mancebos habían de asistir a las clases que de modo reglado en él se impartían.

determinados medicamentos, cuales: opiatas y purgantes, es decir los más “peligrosos”, y exclusión de los que no las necesitan entre los que incluye: simples medicinales como: caña fístula, jirapliega, azúcar rosado, manojo de hierbas, y un largo etcétera..., y medicamentos compuestos cuales: carne de membrillo, aceite rosado, de manzanilla, jarabe de rosas..., y “otras cosas de esta calidad”, justificando dicha exclusión tanto en el precio del medicamento (“son cosas de poco precio”) como en el conocimiento del mismo por el paciente para su salud, y por ello “no puede aver peligro”. Práctica manera de determinar, por precio y experiencia, el control de los medicamentos y la necesaria, o no, receta médica.

Del ayer al hoy la responsabilidad de la prescripción es del médico, y la de la dispensación del boticario, lo ha sido desde la separación de la medicina y la farmacia y lo sigue siendo en la actualidad²², y hoy la normativa reguladora dispone también cuál ha de ser la receta, o no, para dispensar los diferentes medicamentos.

7ª. Prohíbe a los tenderos y especieros vender medicinas por menudo ni dar solimán y acíbar, medicamentos muy tóxicos, sin licencia del médico, es decir, con este requisito los tenderos sí pueden hacerlo por lo cual admite que, en la práctica, otros profesionales y no solo los boticarios vendían medicamentos,²³ e incluso, en

²² Actualmente la prescripción de medicamentos de uso humano no es competencia exclusiva del médico sino también de otros profesionales sanitarios; odontólogos, podólogos, dentistas... y para algunos medicamentos los enfermeros. Hay no obstante medicamentos para cuya dispensación no se necesita receta, otros que necesitan receta ordinaria y otros una receta “especial”, y también hay medicamentos para los cuales se necesita receta diferente como, por ejemplo, los medicamentos en cuya composición se encuentren determinadas sustancias estupefacientes. La normativa reguladora de la Receta médica es muy clara al respecto. Cf. Real Decreto 1718/2010, de 17 de diciembre de 2010 y disposiciones concordantes.

²³ El Dr. FOLCH JOU en su obra *Historia de la Farmacia*, Madrid, 1972, al tratar este tema afirma que le causa extrañeza (cf. pág. 208), tal vez quiso decir que no le gustaba. Estudios posteriores han puesto de manifiesto que es la época estudiada, 1552, y posteriores vendían medicamento otros profesionales y no solo en el Reino de Castilla, véase especieros, y sobre todos drogueros con los cuales los boticarios tuvieron que dirimir más de una discrepancia, como hemos puesto de manifiesto en alguno de nuestros trabajos, y no es hasta la decimonovena centuria, con la promulgación, el 18 de abril de 1860, de las Ordenanzas de Farmacia cuando se reconoce al farmacéutico como el único profesional legalmente autorizado a la dispensación del medicamento.

A este respecto también en el borrador de Ordenanzas para médicos y cirujanos, de 1552, que se conserva en el archivo de Simancas anteriormente referido, en la copia

algunos casos, hasta los propios físicos también lo hacían.²⁴

Redactadas las Ordenanzas los redactores solicitan a los señores del Real Consejo supliquen a S.M. la confirmación de las dichas Ordenanzas, a lo cual, tras ser estudiadas por el Consejo Real, accede el Rey Carlos I, y con fecha, 24 de febrero de 1552, el escribano de cámara, Francisco del Castillo las firma con el mandato de enviarlas nuevamente al ayuntamiento para nueva consulta de los doctores competentes, por ello el 3 de marzo se reúnen de nuevo, en el ayuntamiento madrileño, los médicos redactores de las Ordenanzas, Doctores Mármol, Díaz y Santiago, el corregidor de la villa, licenciado Céspedes de Oviedo, Diego Vargas y Joan Suarez vecinos de Madrid y los regidores Jerónimo de Pisa y Pedro de Herrera y el Corregidor exige, bajo juramento, a los médicos Mármol, Díaz y Santiago digan lo que consideren de dichas Ordenanzas, a lo que individualmente responden afirmando que: “son buenas, justas, y muy necesarias para la república de esta villa y su tierra”.

Un mes después, 9 de abril de 1552, el Corregidor exigió juramento, con el mismo protocolo a Pedro de Torres, médico y cirujano de la Villa. Finalizando así, permítanme la licencia, el trámite de audiencia.

Desconocemos cuanto tiempo estuvieron vigentes y si en la práctica fueron o no cumplidas, lo cual no es óbice para valorar favorablemente la importancia de las mismas, una normativa para regular una actividad profesional cuyo objetivo es velar por el bien común y la salud pública de los ciudadanos, hoy día diríamos en base a garantizar uno de los derechos constitucionales; el de la protección de la salud²⁵.

Los boticarios eran muchas veces practicones aventajados²⁶, sin centros en que formarse y con escasez de obras a su alcance de práctica operatoria el disponer de

facilitada por la Profesora Campos García puede leerse que: ningún físico o cirujano pueda tener tienda de boticario.

²⁴ Así se desprende de la lectura del borrador de Ordenanzas para médicos y cirujanos, de 1552, que se conserva en el Archivo de Simancas, anteriormente citado y que nos ha proporcionado la profesora María Soledad Campos García, en cuyos puntos 44 -46 recoge: *Otrosy que ningún físico o cirujano pueda tener tienda de boticario en su casa ni en otra casa aunque no sea suya ni vender medecinas por si ni por otra persona salvo en el lugar que por pobreza no pueda aver boticario e no le habiendo en otro lugar cercano so pena que por la primera vez...*

²⁵ Artículo 43-1 de la vigente Constitución española de 1978.

²⁶ Cf. Rosa BASANTE POL, María Jesús LOZANO ESTEVE. “Las escrituras de aprendiz de boticario en la villa de Madrid durante los siglos XVI-XVII”. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. Volumen 82, Nº 3(2016), pp. 231-244.

una normas regulatoria le obligaría a una superación.

4. CONCLUSIÓN

Las Ordenanzas de Madrid de Boticarios de 1552 supusieron el establecimiento de unas normas, avanzadas para su tiempo, que pretendía evitar la mala práctica farmacéutica en algo prioritario cual es el medicamento, y su repercusión en la salud pública.

Regula: la elaboración, conservación y dispensación de los medicamentos, la exigencia o no de receta médica, la necesidad de un libro copiador, aunque fuese el médico en este caso el responsable, la obligatoriedad de estar el boticario en la botica, debiendo para ello estar examinado, así como el precio al que debían venderse los medicamentos, previamente tasados a precio justo considerando las ganancias, eso sí moderadas, de los boticarios estableciendo también sanciones económicas altas si se trasgreden dichas normas. ¡Ahí es nada!

De lo antedicho podemos deducir, salvo mejor interpretación, que lo en ellas dispuesto tal vez fueron móvil impulsor de sucesivas regulaciones para los boticarios tanto de Madrid como de otros lugares de la Corona de España.

Salvando las distancias y en la consideración del entendimiento de los supuestos de evolución histórica del pensamiento y el avance científico de una sociedad, entre otros, en el espacio de más de cuatro siglos, los principios rectores de la vigente normativa regulatoria, tanto del medicamento como de la profesión farmacéutica, puede decirse que son los mismos.

La salud, ayer y hoy, bien prioritario y el farmacéutico el profesional sanitario, técnico del medicamento. Evoco los versos de F. Rabelais (1494-1553), ¡Oh salud salud! bendición del rico, riqueza del pobre/ ¿quién podría encontrar demasiado caro/ el precio por comprarte?

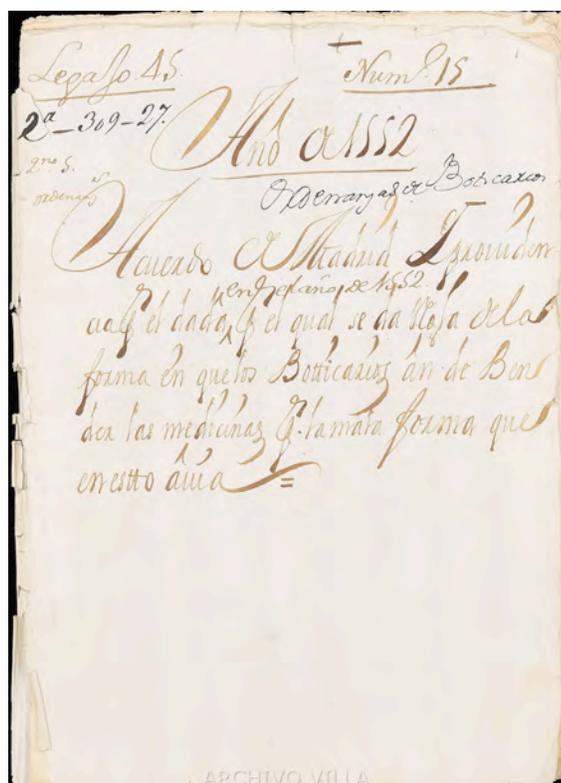


Figura 1. Título en la cubierta del legajo.



Figura 2. Carta y provisión del Rey (f. 6 r).



Sesión científica celebrada el 30 de noviembre de 2017 para conmemorar los Premio Nobel 2017 en Fisiología o Medicina y en Química



Juan Ramón Lacadena Calero
Coordinador de la sesión
Sesión celebrada el 30 de noviembre de 2017
e-mail: jrlgbucm@bio.ucm.es

ORDEN DEL DÍA

Presentación:

“El Premio Nobel 2017 en Fisiología o Medicina. Genética y reloj biológico”

“El Premio Nobel 2017 en Química. Regla de oro de la investigación biológica: la pregunta, el material biológico, la técnica”

Excmo. Sr. D. Juan-Ramón Lacadena Calero
Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Ponentes:

“Ritmos circadianos: importancia del ciclo luz-oscuridad en reproducción”

Dr. Albino García Sacristán
Catedrático de Fisiología, Universidad Complutense de Madrid. Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

“Criomicroscopía electrónica: de la biología descriptiva a la biología estructural”

Dr. José María Valpuesta, Dr. José L. Carrascosa
Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC)

El Premio Nobel 2017 en Fisiología o Medicina. Genética y reloj biológico

Juan-Ramón Lacadena Calero

Un año más, la Real Academia Nacional de Farmacia se reúne en Sesión Científica para conmemorar los Premios Nobel correspondientes a las especialidades de Fisiología o Medicina y de Química.

Dijo en cierta ocasión Theodosius Dobzhansky, eminente biólogo evolucionista, que *Drosophila* había dejado de ser la especie privilegiada de la investigación en Genética para pasar a la honorífica oscuridad de una reina fundadora. Pues bien, el pasado día 2 de octubre de 2017, la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska ha querido contradecir a Dobzhansky cuando hizo pública la concesión del Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2017 a los investigadores Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash y Michael W. Young “por sus descubrimientos de los mecanismos moleculares que controlan el ritmo circadiano”. Los galardonados utilizaron como organismo modelo a *Drosophila melanogaster*, la mosca del vinagre o de la fruta. De hecho, el galardonado Jeffrey Hall dijo en una entrevista que “el cuarto premiado clave aquí es la pequeña mosca”, refiriéndose a *Drosophila*. Pero hagamos un poco de historia.

Como señala la nota de prensa de la Asamblea Nobel, la historia empezó cuando, en 1971, Seymour Benzer y Ronald Konopka identificaron mutantes de *Drosophila* que mostraban alteraciones en el ciclo normal de 24 horas de la eclosión de la pupa y la actividad motora, demostrando que todas las mutaciones correspondían a un mismo gen, que denominaron *period* (1). Como veremos después, dicho gen fue caracterizado diez años más tarde por los tres galardonados Hall, Rosbash y Young. Los galardonados demostraron que este gen codifica para una proteína que se acumula en la célula durante la noche y se degrada durante el día. Posteriormente fueron identificadas otras proteínas implicadas en la maquinaria que mantiene el autocontrol del reloj biológico celular. Los mecanismos descubiertos en *Drosophila* han sido ratificados en las células de otros organismos, incluyendo a la especie humana. Como dice la nota de prensa de la Institución Karolinska, nuestro reloj interno adapta con exquisita precisión nuestra fisiología a las fases del día drásticamente diferentes. El reloj biológico regula funciones críticas tales como el comportamiento, los niveles hormonales, el sueño, la temperatura corporal y el metabolismo. Por otro lado, el desajuste crónico entre nuestro estilo de vida y el ritmo marcado por nuestro reloj está asociado con un aumento del riesgo de contraer diversas enfermedades.

Permítaseme un inciso para comentar brevemente la trayectoria científica de Seymour Benzer (1921-2007), que inició su carrera investigadora como físico, pasando luego al campo de la Biología Molecular y, más tarde, al de la Genética. En 1955, Benzer, trabajando con mutantes *rII*

del bacteriófago T4 de *Escherichia coli*, propuso el concepto de *cistrón* como unidad funcional del gen (2). Recuerdo mis clases de Genética General en la Universidad cuando dedicaba una hora para explicar sus trabajos. Posteriormente, diez años más tarde, Benzer se pasó al estudio de los procesos genéticos que condicionan el comportamiento de los organismos, utilizando *Drosophila* en sus experimentos. Entonces, como profesor de Biología en Caltech, fue cuando en colaboración con Ronald Konopka, identificó un gen que controla el sentido del tiempo en el organismo. Decía un comentarista que, si Benzer estuviera vivo (murió en 2007), tendría que haber compartido el premio porque fue su trabajo pionero el que sentó la base primordial sobre la que se edificó la investigación que ha sido objeto del galardón Nobel.

Como señala Carlos Ibáñez, Profesor de Neurociencia en el Instituto Karolinska (3), una década después del descubrimiento de Benzer y Konopka, los tres galardonados con el Premio Nobel aislaron y caracterizaron molecularmente el gen *period*, pero esos primeros conocimientos no explicaban de forma evidente el posible mecanismo molecular del ritmo o reloj circadiano.

Un primer paso fue el posterior descubrimiento por Hall, Rosbash y Young de otros genes (*timeless*, *doubletime*, *clock*, *cycle*) que interactuaban con el gen *period*, proponiendo el modelo de “lazo de retroalimentación transcripción-traducción” o TTFL (acrónimo de Transcription-Translation Feedback Loop). En este mecanismo de regulación, la transcripción de los genes *period* y *timeless* es reprimida por sus propios productos: las proteínas PER y TIM, respectivamente, originando una oscilación autónoma. Se trata de un nuevo paradigma genético: la existencia de un TTFL circadiano auto-sostenido. Posteriormente, se encontró la interrelación entre distintos TTFL junto con una compleja red de reacciones, incluyendo procesos de fosforilación (por la kinasa DBT) y degradación de las proteínas de los TTFL, ensamblaje de complejos proteicos, translocación nuclear y otras modificaciones post-traduccionales que generan oscilaciones con un periodo de unas 24 horas. Las proteínas CLOCK y CYCLE, codificadas por los genes *clock* y *cycle*, respectivamente, son factores de transcripción que activan el gen *period*.

Termina Ibáñez su comentario científico diciendo que los osciladores circadianos de las células, que responden de forma diferente a las señales externas, controlan varias salidas (outputs) fisiológicas, tales como los patrones del sueño, la temperatura corporal, la liberación de hormonas, la tensión sanguínea y el metabolismo. Estos descubrimientos han revelado mecanismos fisiológicos cruciales que explican la adaptación circadiana con

importantes implicaciones para la salud humana y la enfermedad.

Finalizo esta presentación poniendo de manifiesto con orgullo que, un año más, la investigación en el campo de la Genética ha merecido el Premio Nobel. Repito aquí, actualizadas, las cifras que he puesto de relieve en ocasiones anteriores: Hoy, en 2017, podemos estar orgullosos los amantes de la Genética porque ya son 46 las veces en que el galardón Nobel ha correspondido a 101 científicos del campo de la Genética o ciencias afines. De los 46 premios considerados, 36 pertenecen al ámbito de la Fisiología o Medicina, 9 a la Química y 1 de la Paz y, a su vez, de los 101 científicos galardonados, 79 corresponden a premios de Fisiología o Medicina, 21 de Química y 1 de la Paz. Finalmente, me gustaría destacar que en lo que va de siglo XXI se ha premiado la investigación genética en diecisiete ocasiones: en 2001 (Hartwell, Hunt y Nurse, “por sus descubrimientos de los reguladores clave del ciclo celular”), 2002 (Brenner, Horvitz y Sulston, “por sus descubrimientos sobre la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada”), 2004 (Axel y Buck, “por sus descubrimientos de receptores olorosos y la organización del sistema olfativo”), 2006 (Fire y Mello, “por su descubrimiento de la interferencia por ARN: silenciamiento de genes por ARN de doble cadena”), 2006 (Kornberg, “por sus estudios de la base molecular de la transcripción eucariótica”), 2007 (Capecci, Evans y Smithies, “por sus descubrimientos de los principios para introducir modificaciones génicas específicas en ratones mediante el uso de células troncales embrionarias”), 2008 (zur Hausen, “por su descubrimiento de los virus del papiloma humano causantes del cáncer cervical”; Barré-Sinoussi y Montagnier, “por su descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia humana”), 2008 (Shimomura, Chalfie y Tsien, “por el descubrimiento y desarrollo de la proteína fluorescente verde, GFP”), 2009 (Blackburn, Greider y Szostack, “por el descubrimiento de cómo los cromosomas son protegidos por los telómeros y la enzima telomerasa”), 2009 (Ramakrishnan, Steitz y Yonath, “por los estudios de la estructura y función del ribosoma”), 2010 (Robert G. Edwards, “por el desarrollo de la fecundación in vitro”), 2011 (Bruce A. Beutler y Jules A. Hoffmann “por sus descubrimientos en relación con la activación de la inmunidad innata”; y a Ralph M. Steinman “por su descubrimiento de la célula dendrítica y su papel en la inmunidad adaptativa”), 2012 a John B. Gurdon y Shinya Yamanaka “por el descubrimiento de que las células diferenciadas pueden ser reprogramadas para convertirse en pluripotentes”, 2013 a Randy W. Schekman que compartió el premio con James E. Rothman y Thomas C. Südhof “por sus descubrimientos de la maquinaria que regula el tráfico de vesículas, un sistema principal de transporte en nuestras células” 2015 a Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar “por sus estudios de los mecanismos de reparación del ADN”, en 2016 a Yoshinori Ohsumi “por sus descubrimientos de los mecanismos para la autofagia” y, finalmente, en 2017 a Jeffrey C. Hall,

Michael Rosbash y Michael W. Young “por sus descubrimientos de los mecanismos moleculares que controlan el ritmo circadiano”.

Sin duda, es una década prodigiosa para la Genética como una Alicia en el “País de las maravillas moleculares” que diría Lewis Carroll. En 1995 inicié con mi discurso de ingreso en esta Real Academia Nacional de Farmacia (4) la historia “nobelada” (con “b” de Nobel) de la Genética que tuve la oportunidad de actualizar doce años después (5), y que puse al día en 2016, en una Monografía de esta Real Academia Nacional de Farmacia (6). No obstante, al paso que vamos, es posible que pronto se vuelva a quedar viejo y quién sabe si de aquí a diez años estaré escribiendo –si vivo– una tercera *addenda* de mi visión “nobelada” de la historia de la Genética que comencé hace dos décadas.

REFERENCIAS

1. Konopka RJ, Benzer S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. 1971; 68: 2112-2116.
2. Benzer, S. Fine structure of a genetic region in bacteriophage. Proc. Nat. Acad. Sci., 1955; 41:344-354.
3. Ibáñez, C. Scientific background. Discoveries of molecular mechanisms controlling the circadian rhythm., 7 pp. Nobel Assembly at Karolinska Institutet. 2017.
4. Lacadena, J.R. Historia “nobelada” de la Genética: Concepto y método. Discurso de Ingreso en la Real Academia Nacional de Farmacia del Instituto de España, Madrid, 76 pp. 1995.
5. Lacadena, J.R. Conmemorando los 100 años del término “Genética” (1905-2005): Una historia “nobelada” de la Genética. Conferencia plenaria, Congreso de la Sociedad Española de Genética, Almería, 2005, Secretariado de Publicaciones, Universidad de León, VII+109 pp. 2007.
6. Lacadena, J.R. Historia “nobelada” de la Genética (1900-2016): Concepto y método. Segunda *addenda*. Monografía XLIV, Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid, 199 pp. 2016. a.

Ritmos circadianos: importancia del ciclo luz-oscuridad en reproducción

Albino García Sacristán

¹ Catedrático de Fisiología, Universidad Complutense de Madrid. Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

ABSTRACT: Living organisms have an internal biological clock that helps them anticipate and adapt to the rotation of the Earth. The circadian system is responsible for generating and synchronizing all circadian rhythms. These rhythms are synchronized by the suprachiasmatic nucleus (SQN) of the hypothalamus that sends signals through melatonin, cortisol, body temperature and the autonomic nervous system to the different peripheral clocks (liver, heart, pancreas, etc.). Each neuron of the SQN and each cell of the biological clocks have a molecular machinery formed by different genes with the capacity to encode proteins, which determine rhythms of 24 hours (circadian) in their activity. The light interacts with an intrinsically photosensitive ganglion cell of the retina, whose synapse axon in the SQN projects axons on the paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus. The SQN as a function of the light-dark phase inhibits or excites, respectively, the PVN. This nucleus through the sympathetic nervous system innervates the pineal gland regulating the synthesis of melatonin. Studies on seasonal reproduction have established that the pineal gland mediates the effect of the light-dark environment that allows these species to have specific reproductive seasons throughout the year. This fact guarantees that births occur at the most favorable time of the year for the offspring. Melatonin being the analog signal of ambient lighting, which allows this hormone to synchronize the reproduction of animals whose reproductive cycles are controlled by the photoperiod. In recent years it has been shown that light is the best synchronizer of human biological rhythms. A lack of light-dark adjustment can produce disorders in the phase, in the amplitude and in the period of certain biological rhythms, with the endocrine system being one of the most affected by the action of melatonin on the hypothalamus-adenohypophysis axis.

RESUMEN: Los organismos vivos poseen un reloj biológico interno que les ayuda a anticiparse y adaptarse a la rotación de la Tierra. El sistema circadiano es el encargado de generar y sincronizar todos los ritmos circadianos. Estos ritmos se hallan sincronizados por el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo que envía señales a través de la melatonina, el cortisol, la temperatura corporal y el sistema nervioso autónomo a los diferentes relojes periféricos (hígado, corazón, páncreas, etc.). Cada neurona del NSQ y cada célula de los relojes biológicos poseen una maquinaria molecular formada por diferentes genes con capacidad para codificar proteínas, que determinan ritmos de 24 horas (circadianos) en su actividad. La luz interacciona con una célula ganglionar de la retina intrínsecamente fotosensible, cuyo axón sinapta en el NSQ y este proyecta axones sobre el núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo. El NSQ en función de la fase luz-oscuridad inhibe o excita, respectivamente, el NPV. Este núcleo por mediación del sistema nervioso simpático inerva la glándula pineal regulando la síntesis de melatonina. Estudios sobre reproducción estacional han establecido que la glándula pineal media en el efecto del ambiente luz-oscuridad que permiten a estas especies tener épocas reproductoras concretas a lo largo del año. Este hecho garantiza que los nacimientos ocurran en la época del año más favorable para las crías. Siendo la melatonina la señal analógica de la iluminación ambiental, lo que permite a esta hormona sincronizar la reproducción de los animales cuyos ciclos reproductivos están controlados por el fotoperiodo. En estos últimos años se ha demostrado que la luz es el mejor sincronizador de los ritmos biológicos humanos. Una falta de ajuste luz-oscuridad puede producir desórdenes en la fase, en la amplitud y en el periodo de determinados ritmos biológicos, siendo el sistema endocrino uno de los más afectados por la acción que tiene la melatonina sobre el eje hipotálamo-adenohipofisis.

Corresponding Author: agarcias@ucm.es

An Real Acad Farm Vol. 83, N° 4 (2017), pp. 448-456

INTRODUCCIÓN

La vida en la Tierra se adapta a la rotación del planeta. Los organismos vivos poseen un reloj biológico interno que les ayuda a anticiparse y adaptarse al ritmo regular diario.

El sistema circadiano es el encargado de generar y sincronizar todos los ritmos circadianos, es decir, los que presentan un periodo de 24 horas. Funciona como una

orquesta en la que cada músico toca en un momento preciso. El director es el núcleo supraquiasmático (NSQ), una pequeña estructura del hipotálamo que opera a modo de reloj cerebral central. Los músicos se agrupan en una serie de relojes periféricos, alojados en todos los tejidos y órganos (hígado, corazón, páncreas, etc.); se hallan sincronizados por las señales que les envía el director a través de la melatonina, el cortisol, la temperatura corporal

y el sistema nervioso autónomo. La actividad de estos relojes controla todos los ritmos de nuestro cuerpo (Figura 1).

Cada neurona del NSQ y cada célula de los relojes posee una maquinaria molecular formada por los genes *bmal1*, *clock*, *per* (*per1*, *per2* y *per3*) y *cry* (*cry1* y *cry2*) con capacidad para generar ritmos de unas 24 horas (circadianos) en su actividad, induciendo además la expresión rítmica del diez por ciento del resto del genoma. Si se somete a un organismo a un aislamiento total, estos ritmos persisten con un periodo ligeramente superior a las

24 horas, lo que pone de manifiesto su carácter endógeno.

Los investigadores Jeffrey C. Hall (Nueva York, 1945) y Michael Rosbash (Kansas City, 1944), de la Universidad Brandeis, en Boston, y Michael W. Young (Miami, 1949), de la Universidad Rockefeller, en Nueva York, han sido galardonados con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina de 2017, por sus descubrimientos de los mecanismos moleculares que controlan el ritmo circadiano.

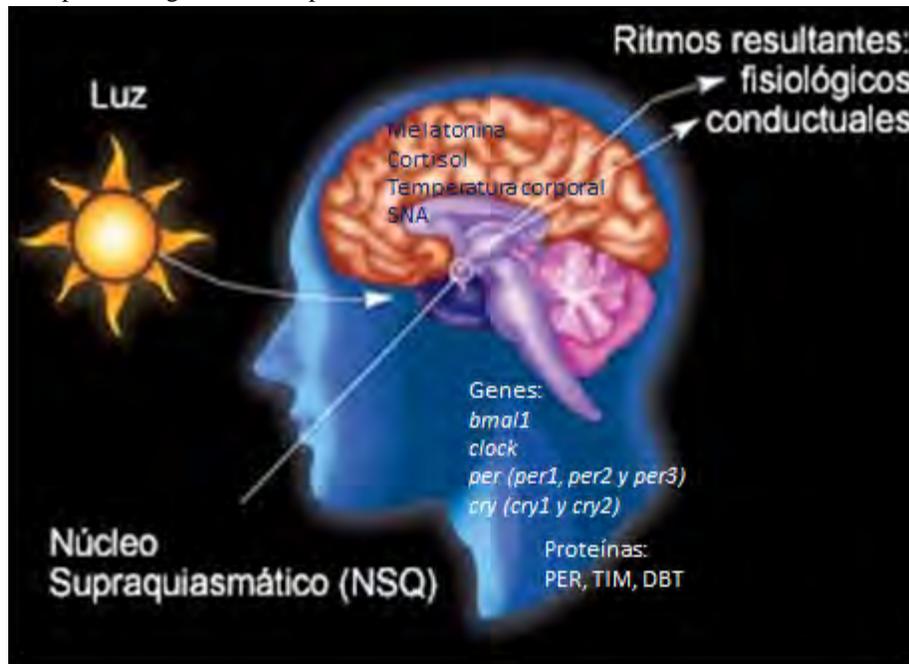


Figura 1. Sistema circadiano.

Estos científicos han sido capaces de analizar este reloj biológico interno y han comprendido su funcionamiento. Sus descubrimientos explican cómo las plantas, animales y humanos adaptan sus respectivos ritmos biológicos de modo que estén sincronizados con las revoluciones de la Tierra.

El director y los músicos siguen fielmente la “partitura” circadiana. El núcleo supraquiasmático ajusta constantemente su ritmo con la hora de la jornada y mantiene conexión directa con la retina, que le informa sobre la luminosidad del entorno. La luz llega al NSQ gracias a las células ganglionares retinianas, unas neuronas que producen un fotopigmento muy sensible a la luz (melanopsina) y que permite una vía independiente de la visión consciente.

RELOJES BIOLÓGICOS

Mediante ciertos mecanismos moleculares denominados relojes biológicos, los organismos adaptamos nuestra fisiología y ciertas conductas a las diferentes fases del día o del año. Gracias a ellos, nuestras pautas de sueño, alimentación o temperatura corporal siguen ritmos circadianos; algunos animales sincronizan con el sol sus

desplazamientos migratorios y su reproducción; o las plantas perciben la luz diurna y la temperatura para decidir en qué momento del año florecer. ¿Pero dónde residen estos relojes? ¿Cómo funcionan? ¿Cuáles son las consecuencias de que se desajusten?

Durante muchos años hemos sabido que los seres vivos poseemos un reloj biológico interno que nos ayuda a anticiparnos y adaptarnos a los ritmos regulares de cada día. Pero ¿cómo funciona este reloj? Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash, y Michael W. Young, indagaron en nuestro reloj biológico y elucidaron su funcionamiento interno.

Los laureados identificaron un gen que regula el ritmo biológico diario normal. Demostraron que este gen codifica una proteína que se acumula en las células durante la noche y se degrada durante el día. Más tarde descubrieron otros componentes proteicos de esta maquinaria al revelar el mecanismo que gobierna el reloj autónomo de las células. Ahora sabemos que los relojes biológicos funcionan con esos mismos principios en las células de otros organismos multicelulares, entre ellos los humanos.

El reloj interno regula funciones esenciales, como los

niveles hormonales, el sueño, la temperatura corporal y el metabolismo. Nuestro bienestar se ve afectado cuando se produce un desajuste temporal entre nuestro entorno y en este reloj. También hay indicios de que la discordancia crónica entre nuestro estilo de vida y los ritmos circadianos se asocia a un mayor riesgo de sufrir varias enfermedades.

En la década de los setenta del siglo pasado se había demostrado que un gen, al que se denominó *per* (de

«período»), controlaba los ritmos circadianos en las moscas de la fruta, pero se desconocía cómo funcionaba. En 1984, los tres científicos recién premiados lograron aislar el gen en cuestión. Después, Hall y Rosbash observaron que PER, la proteína codificada por el gen *per*, se acumulaba durante la noche y se degradaba durante el día. De este modo, los niveles de proteína PER oscilan en un ciclo de 24 horas, en sincronía con el ritmo circadiano (Figura 2).



Figura 2. Autorregulación negativa del gen *per* en un ciclo de 24 horas.

El siguiente paso consistía en comprender cómo se podían generar y mantener esos ritmos circadianos. Hall y Rosbash plantearon la hipótesis de que la proteína PER bloqueaba la actividad del mismo gen *per*. Propusieron que, mediante un mecanismo de autorregulación negativa, la proteína PER evitaría su propia síntesis y, por tanto, regularía su propio nivel en un ritmo cíclico continuo (Figura 3).

El modelo era tentador, pero faltaban algunas piezas del rompecabezas. Para impedir la actividad del gen *per*, la proteína PER, que se produce en el citoplasma, tenía que llegar al núcleo celular, donde se localiza el material genético. Hall y Rosbash habían demostrado que la proteína PER se acumulaba en el núcleo durante la noche, pero ¿cómo llegaba hasta allí? En 1994, Young descubrió un segundo gen de reloj, atemporal, que codificaba la proteína TIM (de timeless), la cual era necesaria para que hubiera un ritmo circadiano normal. Posteriormente, Young demostró que, cuando TIM se unía a PER, las dos

proteínas podían entrar en el núcleo celular y allí bloqueaban la actividad del gen *per*, con lo que se cerraba el ciclo de autorregulación negativa.

Sin embargo, todavía quedaban preguntas por resolver: ¿Qué controlaba la frecuencia de las oscilaciones? Young identificó otro gen que codificaba la proteína DBT, la cual retrasaba la acumulación de la proteína PER. Ello proporcionaba información sobre cómo se ajustaba una oscilación para que coincidiera con un ciclo de 24 horas.

Los descubrimientos de los tres galardonados establecieron principios mecánicos clave sobre el reloj biológico, y durante los años siguientes se aclararon otros componentes moleculares del mecanismo. Desde sus descubrimientos fundamentales, la cronobiología se ha convertido en un campo de investigación vasto y dinámico, con implicaciones para nuestra salud y bienestar.

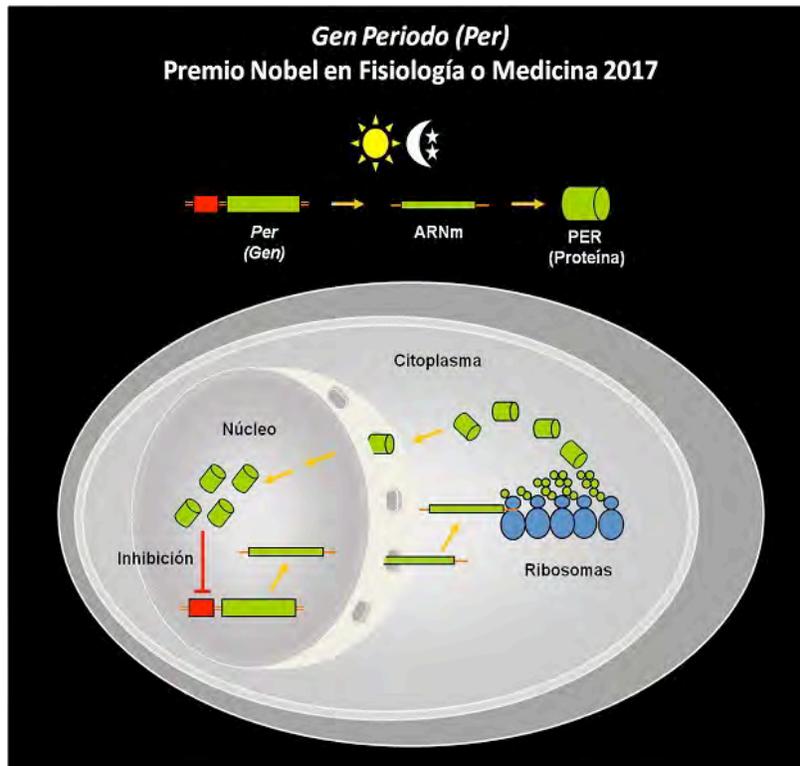


Figura 3. Representación simplista de la retroalimentación negativa que ejerce PER sobre su propio gen *per*.

CONEXIONES NERVIOSAS RETINA- HIPOTÁLAMO-GLÁNDULA PINEAL.

La luz viaja a través de la capa de las células ganglionares de la retina (RGC) y las células nerviosas en el interior de la retina a los conos y bastones en la capa fotorreceptora de la retina. Los conos y bastones envían señales nerviosas de nuevo a través de la retina interior al ganglio, y a través del nervio óptico a las áreas visuales del cerebro. Un pequeño número de las RGCs contienen melanopsina y tienen capacidad fotorreceptora intrínseca (ipRGC). Estas células envían señales nerviosas a áreas no visuales (no formadoras de imagen) del cerebro.

La luz interactúa con una célula ganglionar de la retina intrínsecamente fotosensible (ipRGC), cuyo axón discurre a lo largo del tracto retinohipotalámico (RHT) y finaliza sobre una neurona del núcleo supraquiasmático (NSQ). La neurona del núcleo supraquiasmático libera ácido gamma-amino-butírico (GABA) que inhibe la neurona del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo. En ausencia de luz esta célula libera glutamato el cual estimula la neurona del núcleo paraventricular de este modo la señal continua a través de las neuronas de la columna de células intermediolateral de la médula espinal (ILCC) que sinaptan con neuronas preganglionares simpáticas a nivel de la primera vertebra dorsal. El axón de estas neuronas sale del SNC y se proyecta sobre la cadena ganglionar que discurre paralela a la columna vertebral para sinaptar con una neurona postganglionar en el ganglio cervical superior (GCS). Estas neuronas postganglionares

simpáticas proyectan su axón en la glándula pineal liberando noradrenalina (NA) la cual interacciona con sus receptores beta-adrenérgicos para estimular los niveles de APMc intracelular, conduciendo a un aumento de la síntesis y translación del ARNm que codifica la N-acetiltransferasa (NAT) requerida para la conversión de serotonina a N-acetilserotonina. La membrana de los pinealocitos de la glándula pineal también presenta receptores alfa-adrenérgicos, a los cuales se une la NA. Este hecho activa la enzima hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT) que permite la conversión de N-acetilserotonina en melatonina. La melatonina es liberada a los capilares y conducida a los órganos periféricos para transmitir la información acerca del ciclo luz-oscuridad y al sistema nervioso central para contribuir a arrastrar el reloj central de 24 horas al ciclo luz-oscuridad (Figura 4).

Las acciones de la melatonina en mamíferos están mediadas principalmente por dos receptores acoplados a proteínas G denominados MT1 y MT2. Estos receptores se encuentran en todos los vertebrados. Los receptores presentan la estructura general de receptores acoplados a proteínas G con siete segmentos transmembrana. Recientemente se ha evidenciado un tercer tipo de receptor el MT3 que se encuentra en la glándula pineal y que permite generar un mecanismo de retroalimentación negativa para mantener la concentración fisiológica de melatonina.

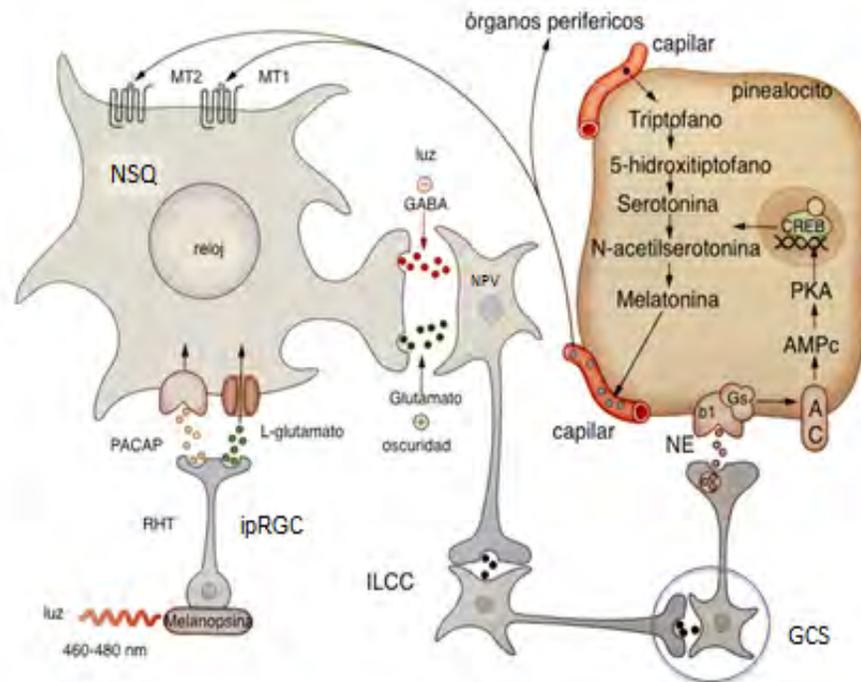


Figura 4. Conexiones nerviosas retina-hipotálamo-glándula pineal.

IMPORTANCIA DEL CICLO LUZ-OSCURIDAD EN REPRODUCCIÓN

Los estudios sobre reproducción estacional estimularon con fuerza el interés por la glándula pineal. Estos estudios establecieron claramente que la glándula pineal media los efectos del ambiente fótico (ambiente de luz-oscuridad) sobre muchos aspectos de la fisiología, como el tamaño de los testículos y el ovario y, en algunos casos, el peso de cuerpo y el comportamiento.

Las especies estacionales han desarrollado ritmos endógenos que les permiten tener épocas reproductivas y anestro a lo largo del año. Se considera que el factor medioambiental más receptible es la cantidad de horas luz por día. Debido a ello los animales utilizan el fotoperiodo como un sincronizador de su ritmo biológico endógeno.

Los cambios en el fotoperiodo son más acentuados en los sitios más alejados del ecuador, donde las especies domésticas pueden mostrar periodos de anestro estacional.

La finalidad de la estacionalidad reproductiva es garantizar que los nacimientos ocurran en la época del año más favorable para las crías, cuando la temperatura ambiental y la disponibilidad de alimentos son buenas, lo

que generalmente ocurre durante las estaciones de primavera y verano. Es por ello que el momento de la actividad sexual parece estar determinado por la duración de la gestación. De acuerdo con esto la yegua que tiene un periodo de gestación promedio de 330 días, cicla durante la primavera y el verano presentando el pico de su actividad reproductiva alrededor del solsticio de verano (Figura 5).

En los meses de poca luz (otoño e invierno), los ciclos estrales desaparecen y la yegua entra en anestro.

En contraste las ovejas y cabras cuyas gestaciones tienen una duración de 147 y 150 días en promedio respectivamente, presentan su estación reproductiva durante los meses con menos horas luz, así sus ciclos estrales ocurren durante el otoño e invierno cuando los días son más cortos.

En los machos de estas especies la actividad reproductiva desciende durante el periodo de anestro, lo cual se asocia con disminución de la espermatogénesis y del diámetro testicular, así como con reducción en las concentraciones de testosterona (Figura 6).

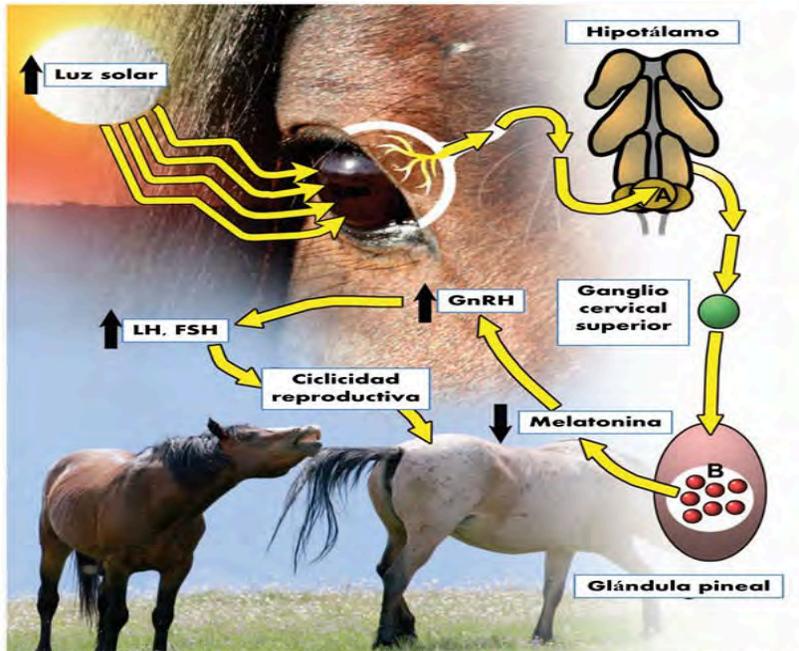


Figura 5. Regulación del estro.

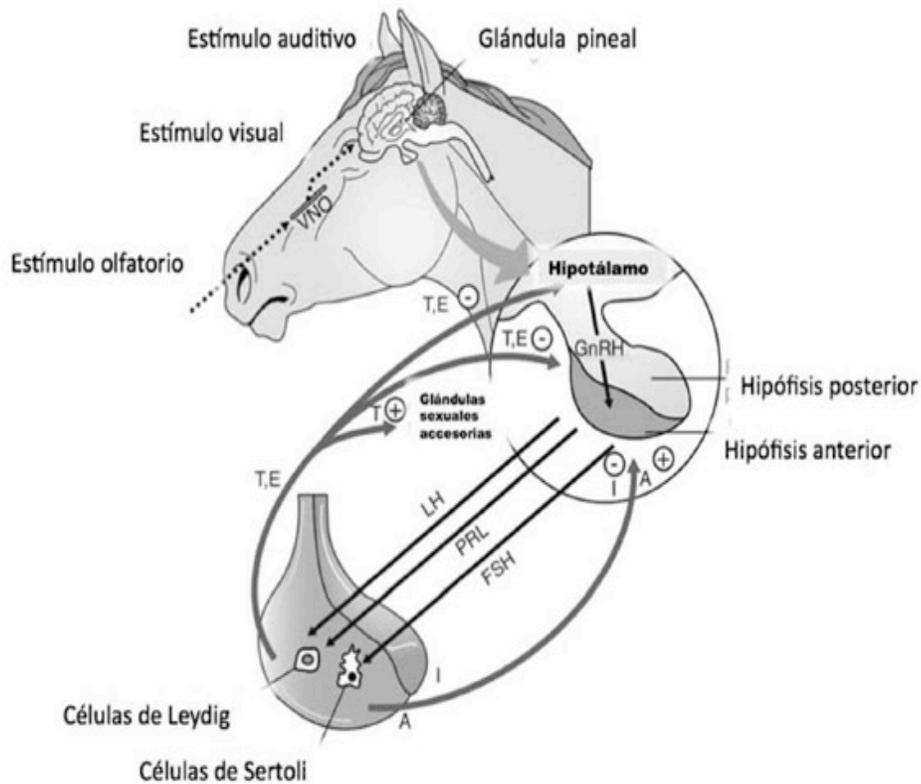


Figura 6. Influencia de la melatonina en la función testicular.

Quizás el impacto más importante derivado de estos estudios fue la comprensión de que la melatonina, desde el punto de vista evolutivo, no conserva un papel positivo o negativo en la reproducción. El aumento de producción de melatonina en estos animales tiene efectos opuestos, por lo que la melatonina no es ni progonadal ni antigonal. La

única función de la melatonina que se conserva evolutivamente es la de ser señal analógica de la iluminación ambiental (señal del tiempo o señal cronológica circulante).

La función principal de la glándula pineal es recibir información sobre la duración de los ciclos de luz-

oscuridad y transmitir esa información a través de la secreción de la hormona melatonina a los sistemas fisiológicos internos del cuerpo. La melatonina juega un papel crítico para sincronizar los ciclos de reproducción estacional a cambios en el ambiente fótico. Los animales cuyos ciclos reproductivos anuales están controlados por el fotoperiodo (longitud de fotofase y/o escotofase) se denominan fotoperiódicos.

En los animales de reproducción estacional, la información sobre la época del año es crucial para el éxito de la reproducción. Algunos ejemplos de las funciones estacionales de la melatonina incluyen, además de las que se requieren para el éxito de la reproducción, los cambios en el crecimiento, el color de la capa y los cambios en el apetito en preparación para o en la recuperación de la hibernación.

Los resultados de diferentes investigaciones parecen sugerir que la melatonina liberada por la glándula pineal actúa, ya sea a través de la sangre o el líquido cefalorraquídeo, en el hipotálamo o directamente sobre la hipófisis para reducir los niveles circulantes de LH en animales fotoperiódicos. La luz inhibe el estímulo simpático a la glándula pineal, que motiva la disminución de la síntesis de melatonina lo que determina el aumento de los niveles de LH que conduce al estro.

Uno de los hechos más sorprendentes de la reproducción es el que se observa en algunas hembras de ciclo corto de gestación que generan el estro en verano y el parto se produce en la primavera del año siguiente. ¿Cómo es posible esto ?.

Los corzos, especie que en estas últimas décadas tanto se ha extendido por la Península Ibérica, son un claro ejemplo de este tipo de reproducción. La gestación en la corza no comienza inmediatamente después del apareamiento, como ocurre en la mayoría de los animales. El óvulo, una vez fecundado, da lugar a un cigoto que sufre las primeras divisiones celulares hasta el blastocisto, luego el desarrollo se detiene y el embrión permanece en un estado latente hasta aproximadamente el mes de diciembre. En ese momento continúa desarrollándose normalmente produciéndose el parto en los meses de abril o mayo. En total transcurren unas 40 semanas desde la fecundación hasta el nacimiento, aunque realmente la verdadera gestación dura sólo 19 semanas. A este fenómeno se le llama diapausa embrionaria o

implantación diferida y es frecuente también en otros grupos de mamíferos como en varias especies de murciélagos, focas comedoras de cangrejos, osos hormigueros gigantes, canguros tamar, etc.

Mediante la diapausa embrionaria, la hembra tiene un control sobre su gestación. Si las condiciones ambientales son propicias y el estado nutricional de la hembra es el adecuado, se produce una liberación de hormonas que hace que se reinicie la gestación propiamente dicha. Si las condiciones son adversas o el estado de salud de la hembra no es el adecuado, la gestación no prosigue con el consiguiente ahorro energético para ella.

Hasta hace unos años se pensaba que el sistema circadiano humano, al contrario que el de los demás mamíferos, era insensible al ciclo luz-oscuridad y que los factores sociales eran los principales agentes sincronizadores. En estas tres últimas décadas se ha demostrado que la luz es el mejor sincronizador de los ritmos humanos (Figura 7). Una falta de ajuste luz-oscuridad puede producir desórdenes en la fase, en la amplitud y en el periodo de determinados ritmos biológicos.

Tres millones de años de evolución de la vida en un ambiente donde día y noche se han sucedido con precisión, en apenas un siglo la luz artificial ha invadido la noche y avanza como una mancha de aceite borrando la oscuridad. Por la mañana, lo primero que hacemos después de apagar el despertador es darle al interruptor de una lámpara; cuando el sol se oculta, la misma luz ilumina nuestras últimas horas de trabajo y ocio antes de acostarnos.

Estos actos, en apariencia inofensivos, entrañan un coste en términos de salud. Al encender la luz cuando ya se ha puesto el sol, el NSQ interpreta que es de día, cuando en realidad es de noche; se comunica entonces con los diferentes órganos, incluida la glándula pineal, y les envía una información errónea, que les induce a realizar los ajustes fisiológicos propios de la actividad diurna. De esta modo, los ritmos de las células se desincronizan del ciclo ambiental natural, lo que genera un desajuste temporal, que se conoce como cronodisrupción. Siendo el sistema endocrino uno de los más afectados por la acción que tiene la melatonina sobre el eje hipotálamo-adenohipófisis (Figura 8).

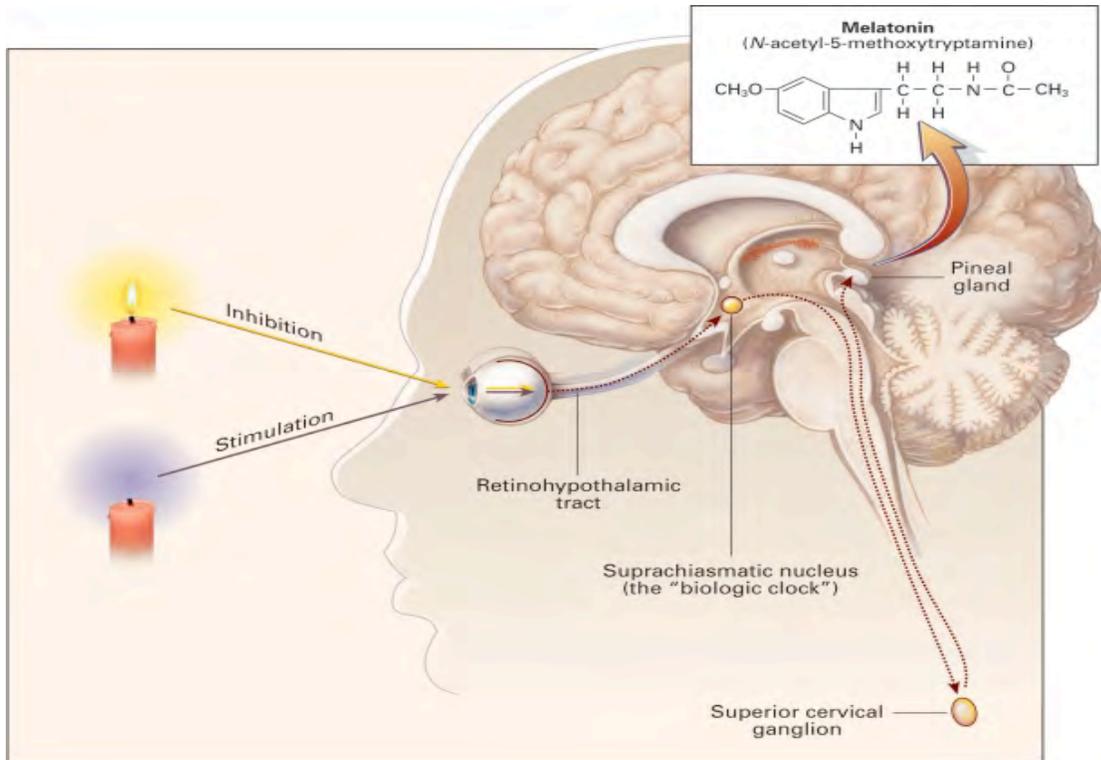


Figura 7. Regulación lumínica en la producción de melatonina en humanos.

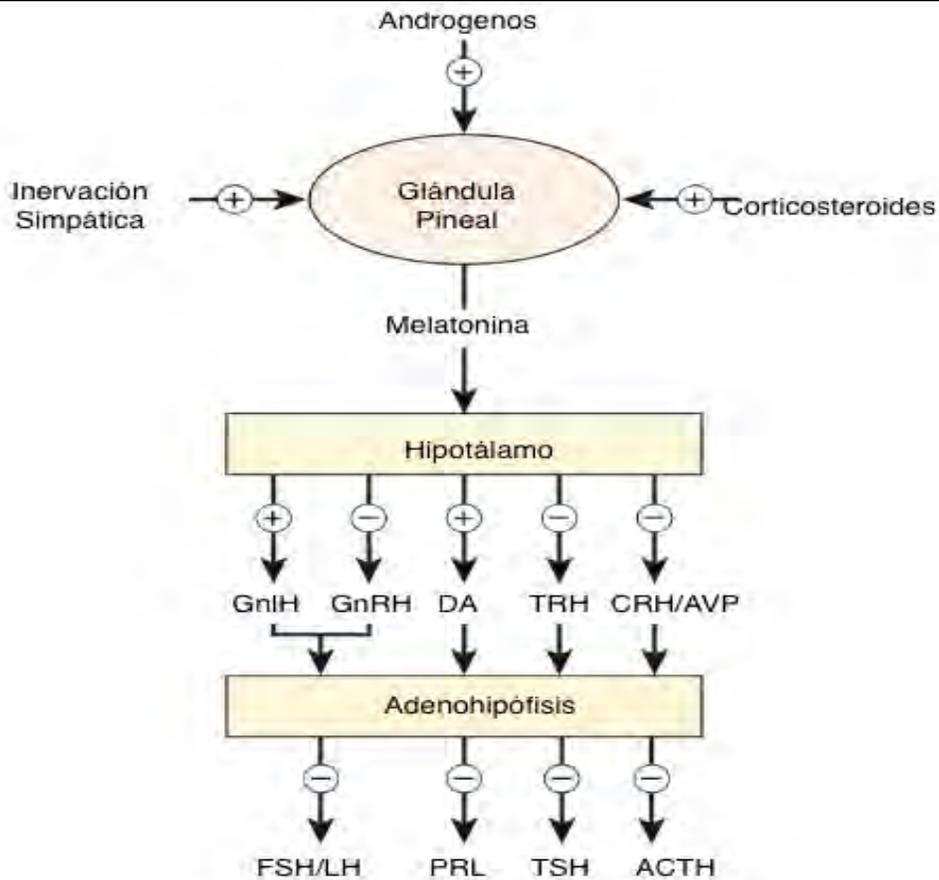


Figura 8. Acción de la melatonina en la producción de hormonas hipotalámicas.

Una falta de ajuste con el ciclo luz-oscuridad puede producir desordenes, entre los que destacan:

Síndrome de fase retrasada de sueño es propio de adolescentes y se caracteriza por la imposibilidad de iniciar el sueño nocturno antes de las dos o las tres de la madrugada. Por el contrario, el *síndrome de sueño avanzado* se caracteriza por una presentación anticipada del sueño con relación a lo normal, y lo padecen un 40% de ancianos que sufren problemas de sueño inadecuado con episodios frecuentes de despertar. Esta mala calidad del sueño disminuye el rendimiento intelectual y físico durante el día.

La depresión bipolar (*síndrome maniaco-depresivo*) y la denominada *enfermedad depresiva estacional* parecen estar relacionadas con el sistema circadiano. La enfermedad depresiva estacional se produce cada año en la misma época, al comienzo del otoño, y desaparece en primavera. Los que sufren esta enfermedad tienden a comer y dormir en exceso, disminuyen su actividad física, tienen dificultades con el trabajo y en las relaciones interpersonales.

Un ejemplo claro de desincronización es el que se produce cuando se realiza un vuelo transmeridiano a través de varios husos horarios. Aunque los efectos varían en intensidad dependiendo de los individuos, los síntomas generales incluyen: alteración del sueño, problemas gastrointestinales, disminución de la capacidad de atención y alerta y sensación general de malestar. Al conjunto de todas estas alteraciones se les denomina con el término anglosajón de *jet lag*. Dos factores fundamentales parecen ser los responsables de este síndrome: a) la desincronización externa que se produce entre el tiempo de los ritmos endógenos y el tiempo externo; al parecer, el sistema circadiano necesita varios días para sincronizarse con el tiempo ambiental local, y b) la desincronización interna entre diferentes ritmos fisiológicos debida a que los osciladores o relojes del organismo se ajustan al nuevo tiempo ambiental a diferentes velocidades, lo que produce diferencias de fase entre ellos.

El tiempo que se necesita para adaptarse al nuevo sistema ambiental depende del número de horas de cambio de fase producidas, del nuevo horario de iluminación, comidas y diversos factores sociales. La dirección del vuelo también influye en la capacidad de adaptación, los

vuelos en dirección oeste, que producen un retraso de fase del sistema circadiano, permiten un ajuste más rápido que los vuelos hacia el este, los cuales generan adelanto de fase.

Los *turnos rotatorios de trabajo* alteran con frecuencia los ritmos circadianos de los trabajadores, reduciendo la productividad y la satisfacción en el trabajo con consecuencias para la salud. De un 15% a un 30% de la población activa en los países industrializados tiene trabajos con turnos rotatorios. Este diseño laboral se ha desarrollado por las demandas económicas, la necesidad de atención continuada de procesos tecnológicos en industrias químicas, siderúrgicas, centrales nucleares, etc., o por la demanda de servicios de 24 horas en hospitales, transportes, bomberos, etc. Los turnos rotatorios de trabajo producen situaciones de desincronización externa, alterando el sueño y su control y produciendo desórdenes digestivos. En trabajadores con turnos nocturnos se ha descrito un riesgo de úlceras de estómago varias veces superior que en trabajadores de día.

Los resultados de numerosos estudios experimentales y epidemiológicos no dejan lugar a dudas: la cronodisrupción se asocia a una mayor incidencia de patologías, entre ellas deterioro cognitivo, hipertensión, envejecimiento acelerado, diabetes, obesidad, depresión, inmunodepresión, infertilidad, insomnio y cáncer. Ello llevó en 2007 a la Agencia Internacional del Cáncer, de la Organización Mundial de la Salud, a considerar el trabajo a turnos que produce cronodisrupción como cancerígeno potencial.

BIBLIOGRAFIA

- Delgado JM et al. Manual de Neurociencia. Editorial Síntesis, S.A. Madrid. 1998
- Fundación Nobel. Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2017
- López Pérez M. La glándula pineal. En García Sacristán A. Editor Fisiología Veterinaria. Madrid: Editorial Tébar Flores 2017 (en prensa): pp. 457-470.
- Madrid Pérez JA. La iluminación artificial desajusta nuestro reloj biológico. *Investigación y Ciencia* 2015; 468:10-12.
- Madrid JA, Rol de Lama A. Cronobiología básica y clínica. Editec@Red, S.L. Madrid. 2016 .

Premio Nobel en Química 2017. Regla de oro de la investigación biológica: la pregunta, el material biológico, la técnica

Juan-Ramón Lacadena Calero

Les solía decir a mis alumnos de la Facultad de Biología que si alguna vez pretendían alcanzar el Premio Nobel como investigadores, o al menos hacerse famosos, tenían que tener siempre presente la “regla de oro de la investigación”; es decir, buscar la respuesta a una pregunta importante, utilizar el material biológico idóneo y utilizar la técnica metodológica o instrumental adecuados.

En la Historia de la Biología en general y de la Genética en particular, en numerosas ocasiones se han galardonado con el Premio Nobel técnicas metodológicas o instrumentales que han revolucionado la investigación. Así, podemos recordar

- **Tecnología de ácidos nucleicos**

Endonucleasas de restricción: Arber, Smith y Nathans (1978)

Secuenciación del ADN: Gilbert y Sanger (1980)

Moléculas de ADN recombinante: Berg (1980)

Reacción en cadena de la polimerasa, PCR: Mullis (1993)

Mutagénesis dirigida: Smith (1993)

Tecnología *knock-out*: Capecchi, Evans y Smithies (2007)

Proteína fluorescente verde, GFP: Shimomura, Chalfie y Tsien (2008)

- **Técnicas de apoyo**

Anticuerpos monoclonales: Köhler y Milstein (1984)

Fecundación in vitro: Edwards (2010)

Ultracentrífuga: Svedberg (1926)

Electroforesis: Tiselius (1948)

Microscopio electrónico: Ruska (1986)

Microscopio electrónico de barrido: Binning y Rohrer (1986)

Microscopio de fluorescencia (Nanoscopía): Berzig, Hell y Moerner (2014)

Hoy, a esta lista hay que añadir la microscopía crio-electrónica que les ha valido el Premio Nobel 2017 en Química a Jacques Dubochet, Joachim Frank y Richard Henderson “por desarrollar la microscopía crio-electrónica para la determinación de estructuras de alta-resolución de biomoléculas en solución”, en palabras de la Real Academia Sueca de Ciencias otorgante del galardón. La glosa de este premio está cargo del Dr. José M^a Valpuesta, que se incluye a continuación.

Criomicroscopía electrónica: de la biología descriptiva a la biología estructural

José María Valpuesta, José L. Carrascosa

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC). Darwin, 3. 28049 Madrid.

ABSTRACT: The award to Jacques Dubochet, Joachim Frank and Richard Henderson of the Nobel Prize in Chemistry 2017 "for developing cryoelectron microscopy for the high-resolution structure determination of biomolecules in solution" has revealed once more the importance of structural biology, a small discipline in quantitative terms, but of a huge influence on molecular biology. Electron microscopy, a technique developed more than 80 years ago that has been fundamental in the generation of knowledge both in the fields of Biology and Material Science, has become, thanks to the development of cryoelectron microscopy, a powerful structural technique, equivalent to X-ray crystallography or Nuclear Magnetic Resonance. These Nobel awardees, along with other scientists that the Nobel Foundation cannot reward but whose names should not be forgotten, have contributed to transform electron microscopy into a technique capable of resolving the structure of biological molecules at atomic resolution.

RESUMEN: La reciente concesión del Premio Nobel de Química 2017 a tres investigadores, Jacques Dubochet, Joachim Frank y Richard Henderson, por su contribución al desarrollo de la técnica de la criomicroscopía electrónica, vuelve a poner en actualidad a la biología estructural, que es una pequeña disciplina en términos cuantitativos, pero de enorme influencia en la biología molecular. La microscopía electrónica, desarrollada hace ya más de 80 años y que ha resultado fundamental en la generación de conocimiento tanto en el campo biológico como en el de materiales, ha devenido en una técnica estructural muy poderosa, al mismo nivel que la difracción de rayos X o la Resonancia Magnética Nuclear. Los científicos antes nombrados han contribuido, junto con otros muchos otros que la Fundación Nobel no puede premiar pero cuyos nombres no deben olvidarse, a que la resolución atómica de estructuras biológicas mediante microscopía electrónica sea una realidad.

Corresponding Author: jmv@cmb.csic.es

An Real Acad Farm Vol. 83, Nº 4 (2017), pp. 458-464

Se puede decir que la Vida es una serie coordinada de reacciones químicas, conectadas entre sí a distintos niveles, en las que moléculas biológicas de todo tipo (proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, azúcares) son transformadas. La mayor parte de los científicos que estudian esas reacciones, es decir las moléculas que son transformadas y las que realizan la transformación, lo hacen de manera reduccionista, analizando su comportamiento desde un punto de vista que podríamos definir como bidimensional, estudiando la naturaleza de los procesos sin tener en cuenta que todas esas moléculas tienen una estructura tridimensional y que las reacciones se llevan a cabo porque se produce una complementariedad en el espacio entre las moléculas involucradas. El estudio de la estructura tridimensional de las moléculas biológicas –la biología estructural antes mencionada– ha influido notablemente en el desarrollo de la biología molecular, con la introducción de conceptos que ahora damos por sentado (1). En este proceso histórico, ciertos descubrimientos y ciertos nombres han ocupado un papel preponderante.

La biología estructural es hija de la revolución que tuvo lugar en la Física en las primeras décadas del siglo XX. El descubrimiento accidental de los rayos X por parte de Wilhelm Roentgen (Premio Nobel de Física de 1901) (2)

abrió un enorme campo para la experimentación física, y en los siguientes años, investigadores como Max von Laue (Premio Nobel de Física de 1914) (3) se dedicaron a estudiar sus extraordinarias propiedades de interacción con la materia. Estas propiedades son más fáciles de estudiar si las moléculas del material sobre el que inciden los rayos X están ordenadas formando cristales tridimensionales. Pronto algunos de esos investigadores se apercebieron de que, siendo la longitud de onda de los rayos X del orden de 1 Å, éstos podían utilizarse para estudiar estructuras con la posibilidad de resolver las distancias entre los átomos de las moléculas. La difracción de rayos X como técnica de análisis estructural había nacido y sus mayores impulsores fueron William y Lawrence Bragg (padre e hijo, Premios Nobel de Física de 1925) (4), quienes utilizaron esta técnica para determinar estructuras de moléculas inorgánicas simples como NaCl y ZnS. La técnica sufrió un continuo desarrollo y permitió pronto no sólo la determinación estructural de compuestos orgánicos más complejos como la penicilina o la vitamina B12, gracias al trabajo pionero de Dorothy Hodgkin (5), sino también el análisis de las primeras moléculas biológicas.

Entre éstas destacan las proteínas, cuya química básica se conocía desde finales del siglo XIX. La mayor parte de

los aminoácidos ya se habían caracterizado para entonces, así como el enlace peptídico que los une, y estaba claramente establecido el papel esencial de las proteínas en multitud de procesos biológicos. Además, varias proteínas habían sido cristalizadas –enzimas proteolíticas como la ureasa y la pepsina (6,7)-, lo que dejaba claro que estaban formadas por moléculas con una única secuencia que daba lugar a la función específica que poseyesen. El concepto de tridimensionalidad de las proteínas –y en realidad de cualquier molécula biológica- comenzó a desarrollarse en esa época gracias a la genialidad y a los resultados de un científico único. Linus Pauling (Premio Nobel de Química de 1954) supo introducir en la Biología conceptos que, provenientes de la Física, comenzaban a utilizarse en la Química, como los del doble enlace, la resonancia, los enlaces débiles –puente de hidrógeno, de van der Waals, interacciones hidrófobas ...- (8). Estos enlaces débiles permiten disponer en tres dimensiones la secuencia de las proteínas que hasta entonces se entendía como una mera sucesión unidimensional de aminoácidos. Pauling no sólo teorizó sobre esta cuestión, sino que realizó experimentos para probar que la destrucción de los enlaces débiles induce la desnaturalización de la proteína y la pérdida de su estructura tridimensional y de su función, sin destruir la secuencia aminoacídica (9). Las proteínas tienen pues una estructura tridimensional que es preciso mantener para realizar su función.

¿Cómo determinar esa estructura? William Astbury, de la escuela de los Bragg, había utilizado la difracción de rayos X con fibras de lana y pelo para mostrar que en las proteínas que las forman existían disposiciones regulares de los aminoácidos (10). Fue otra vez la genialidad de Pauling, quien conocía como nadie la naturaleza del enlace peptídico, las distancias atómicas entre sus componentes –obtenidas mediante experimentos de difracción de rayos X- y la naturaleza química de éstos, quien sugirió la existencia de dos tipos de estructuras, la α -hélice y la lámina β , que son imprescindibles para el mantenimiento de la estructura tridimensional de las proteínas, gracias a los enlaces débiles que tienen lugar entre átomos de esas estructuras (11,12).

Como se ha comentado anteriormente, la difracción de rayos X había mostrado muy rápidamente la capacidad de determinar la estructura de compuestos simples como sales inorgánicas, y aunque potencialmente podía hacer lo mismo con proteínas, la complejidad y tamaño de éstas hizo en la práctica imposible su resolución hasta que se fueron solventando a lo largo de casi cuarenta años una serie de problemas técnicos. Está fuera de este artículo referirse a esta cuestión, pero sí que muchas de las soluciones vinieron de la mano de o auspiciadas por un científico extraordinario, el austríaco Max Perutz (Premio Nobel de Química de 1962). En los años 30, Perutz llegó a Cambridge para realizar su tesis doctoral y contactó con Lawrence Bragg, entonces en el *Cavendish Laboratory*, para utilizar la difracción de rayos X con compuestos biológicos. Durante las siguientes décadas, y en colaboración con John Kendrew (Premio Nobel de

Química de 1962), trabajó en la determinación estructural de dos proteínas homólogas, mioglobina y hemoglobina. Por influencia de Bragg, Perutz fue el primer investigador del *Laboratory of Molecular Biology* –el primer centro de investigación con ese nombre, fundado en 1947, y que se ha convertido en referencia mundial en el campo de la biología estructural-. Al centro pronto se incorporaron otras luminarias científicas como Francis Crick, James Watson y Hugh Huxley, cuyos trabajos proporcionarían un fuerte impulso a la biología molecular. Después de más de una decena de años, y tras un trabajo ímprobo, Kendrew consiguió determinar la estructura de la mioglobina (13) y Perutz la de la hemoglobina (14). Las dos estructuras permitieron confirmar la existencia de la α -hélice y además, vista la semejanza entre sus estructuras y su función –las dos proteínas están involucradas en el transporte de O_2 y CO_2 - fue posible concluir que hay una clara relación entre la estructura tridimensional de las moléculas biológicas y su función.

Otras estructuras siguieron en los siguientes años, y entre ellas merece la pena mencionar la del complejo entre la lisozima y un inhibidor que emula su sustrato. La estructura de este complejo, determinada por el grupo de David Phillips en Londres (15), permitió no sólo confirmar la existencia de la lámina β sino la perfecta complementariedad que existe entre las superficies de contacto de la enzima con su sustrato, sin duda otra afirmación de la relación íntima que existe entre la estructura y la función.

Pero sin duda el culmen de la biología estructural, quizás el momento en el que la biología molecular se inicia como disciplina independiente, es la publicación en 1953 del modelo de la doble hebra del ADN, la molécula biológica que almacena y transmite la información sobre la herencia. James Watson y Francis Crick (Premios Nobel de Química de 1962) modelaron la estructura de este polímero con la misma estrategia que siguió Pauling para modelar la α -hélice y la lámina β , el conocimiento de las distancias entre átomos obtenidas mediante difracción de rayos X y posterior modelado mediante información complementaria procedente de multitud de experimentos bioquímicos (16,17). La estructura modelada, una hermosa doble hélice en el que las dos hebras se ajustan mediante la interacción de las bases complementarias de las dos secuencias, sugirió inmediatamente a sus descubridores la forma en que la información genética se transmite, la copia independiente de las dos hebras mediante un mecanismo que entonces era desconocido.

La difracción de rayos X ha producido desde entonces miles de estructuras tridimensionales de todo tipo de moléculas biológicas y se ha convertido sin duda alguna en la técnica más influyente en el armamento de la biología molecular. Su evolución ha contribuido además al desarrollo de distintas infraestructuras internacionales como las bases de datos o las instalaciones de luz sincrotrón que han ayudado a la internacionalización de la ciencia.

El otro pilar tradicional de la biología estructural ha

sido la Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Ya desde los años 70, la labor de grupos como el de Kurt Wüthrich (Premio Nobel de Química en 2002), en el ETH de Zurich, pusieron las bases para la determinación de la estructura tridimensional con resolución atómica de proteínas (y otras macromoléculas) en solución mediante RMN. El principio de esta técnica espectroscópica es la determinación de distancias inter-atómicas y de ángulos dihédricos, entre otros parámetros, para modelar una estructura en base a las restricciones estructurales obtenidas, y Wüthrich la utilizó para determinar en 1982 la estructura atómica del inhibidor de la tripsina pancreática (18). Sin embargo, las capacidades de la RMN, más allá de la pura determinación estructural, han hallado su área de aplicación en los estudios de dinámica estructural, plegamiento de proteínas y, muy especialmente, en el análisis de interacciones. No obstante, a pesar de sus enormes potencialidades, el uso de la RMN ha estado limitado a sistemas de relativa baja masa molecular y ha estado tradicionalmente penalizado por sus largos tiempos de recolección de datos y de resolución de estructuras, si bien se está avanzando considerablemente en todos estos aspectos y, actualmente presenta un futuro muy prometedor.

Mientras que la difracción de rayos X comenzaba a ser utilizada para el análisis de muestras biológicas, otra técnica, la microscopía electrónica, nació a resultas de los desarrollos teóricos producidos durante la misma revolución que tuvo lugar en la Física. Su concepción parte de los estudios de Louis de Broglie (Premio Nobel de Física de 1929), quien formuló la teoría de que los electrones tienen una naturaleza dual corpúsculo/onda. La confirmación de estos estudios tuvo unos claros efectos prácticos: los electrones podían interactuar con la materia –y por lo tanto extraer información de ésta- y ser manejados mediante dispositivos electromagnéticos. Durante los siguientes años, principalmente en Alemania y alrededor de un grupo de la universidad de Berlín liderado por Max Knoll, del que su estudiante de doctorado Ernst Ruska sería el mayor activo, se desarrollaron las primeras lentes electromagnéticas y unos primitivos sistemas de vacío que permitieron generar imágenes en un rudimentario microscopio electrónico de transmisión construido por el grupo en 1931 (19). No se tardó mucho tiempo en utilizar los primeros microscopios electrónicos para observar muestras biológicas, en concreto de virus y bacterias, de la mano de Helmut Ruska, hermano de Ernst (20).

El desarrollo de los microscopios tuvo como mejora fundamental el aumento de voltaje, que posibilitó el uso de radiaciones de longitud de onda más corta y por lo tanto una mayor capacidad de resolución. Un microscopio electrónico de 200 kV emite electrones con una longitud de onda de 0,025 Å y por lo tanto es capaz en principio de resolver detalles subatómicos de las moléculas bajo estudio. Esto es casi cierto desde hace tiempo en el área de Materiales, en el que se estudian estructuras compuestas fundamentalmente de elementos pesados que interactúan entre sí a través de enlaces fuertes: las muestras pueden

irradiarse sin mucho problema y además producen mucho contraste –dispersan más los electrones-(21). En la práctica, y en el campo de la Biología, esto distaba mucho de ser posible hasta hace unos pocos años. El problema fundamental cuando se trabaja con una muestra biológica es que su estructura tridimensional se conserve mientras es irradiada, y es que esa estructura se mantiene como tal gracias a los enlaces de carácter débil que se producen en su interior y con las moléculas de agua que las solvatan, y estos enlaces son destruidos rápidamente por la radiación electrónica. El agua por lo tanto debe mantenerse presente si se quiere tener una imagen fiel de la muestra. Esto representa un problema, pues el microscopio electrónico requiere trabajar en condiciones de alto vacío para que los electrones –que interactúan fuertemente con la materia- atraviesen la columna del microscopio electrónico, irradian la muestra y sean dispersados por ella. El vacío del microscopio haría desaparecer el agua de la muestra –y, de hecho, toda la muestra-. Mantener pues la muestra biológica hidratada dentro del microscopio electrónico parecía una quimera y los investigadores, desde los trabajos pioneros de Helmut Ruska, se dedicaron a intentar remover el agua de las muestras sin que el proceso de deshidratación afectase demasiado a su estructura. Para ello se idearon técnicas de “moldeado” (22-24) en las que el agua es reemplazada por un material que no sólo es más resistente a la radiación sino que también genera más contraste. Estas técnicas son muy agresivas para la muestra y limitan mucho la resolución a la que se las puede analizar, pero facilitaron durante esos años iniciales la visualización de estructuras biológicas (tejidos, células, organelos subcelulares, bacterias, virus, ...). Como ejemplo, sirvan los estudios de Albert Claude, Christian de Duve y George Palade (Premios Nobel de Medicina o Fisiología de 1974) que permitieron describir la estructura de la célula y sus distintos organelos (25,26), o los de Hugh Huxley en el *Laboratory of Molecular Biology* que ayudaron a comprender el mecanismo de contracción del músculo (27). La microscopía electrónica vivió durante el segundo tercio del siglo XX una era dorada como técnica descriptiva, pero durante ese tiempo se realizaron también los primeros estudios que mostraron que dadas las condiciones adecuadas, y mediante técnicas de procesamiento de imagen, se podía recuperar información sobre la estructura tridimensional de las moléculas biológicas bajo estudio. En este campo sobresale la figura de Aaron Klug (Premio Nobel de Química de 1982), también en el *Laboratory of Molecular Biology*. Klug y colaboradores desarrollaron durante la década de los 60 la teoría de la imagen que se produce en un microscopio electrónico. Estos estudios demostraron que la información que se registra corresponde a la proyección del espécimen, en definitiva que existe información tridimensional y que ésta se puede recuperar mediante técnicas de procesamiento de imagen, que aplicaron en un principio a especímenes regulares como virus icosaédricos o colas de bacteriófagos (28-30). Utilizando estas técnicas y en colaboración con David de Rosier, Klug publicó la primera reconstrucción tridimensional de una estructura biológica,

la cola del bacteriófago T4 (31).

Desde inicios de los 70 se había establecido pues la metodología para la determinación tridimensional de estructuras biológicas, pero persistía el problema de la preparación de la muestra, que debía ser deshidratada y tratada con agentes químicos, lo que suponía la destrucción de los detalles de media y alta resolución. ¿Cómo conseguir mantener la muestra hidratada y en condiciones nativas? La genial idea la tuvo a principios de los años 80 el primero de los galardonados con el Premio Nobel de Química de este año, el suizo Jacques Dubochet. Trabajando en el *Biozentrum* de Basilea, estuvo involucrado en los trabajos que allí realizaba Eduard Kellenberger para optimizar los métodos de sustitución del agua en muestras biológicas. Para ello, se estaban empezando a utilizar bajas temperaturas durante el proceso de inclusión en resinas plásticas, minimizando de esta forma la desnaturalización de los componentes celulares. Tras su marcha al Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL, Heidelberg), Dubochet y sus colaboradores continuaron trabajando en el uso de bajas temperaturas para preparar muestras biológicas en microscopía. Su esfuerzo es un claro ejemplo de perseverancia y confianza en la ciencia (tanto a nivel personal como institucional) y, tras muchos años de pruebas y desengaños, consiguieron diseñar un procedimiento para congelar las muestras a muy baja temperatura (por debajo de $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$) y a gran velocidad, de tal manera que el agua de hidratación se solidifica y forma una capa de hielo amorfa, de naturaleza vítrea (32). A partir de este proceso de vitrificación, que congela la muestra manteniéndola en su estado original, todos los pasos posteriores deben hacerse a baja temperatura, incluyendo la observación en el microscopio electrónico – es por eso que la técnica en su conjunto se llama criomicroscopía electrónica-, y es en este punto donde otro de los Premios Nobel de Química de este año, el británico Richard Henderson –también en el *Laboratory of Molecular Biology* de Cambridge- realizó su primera contribución, ya que estuvo involucrado en el diseño de la instrumentación necesaria para el manejo de las muestras vitrificadas (33).

A decir verdad, Henderson ya había realizado una contribución fundamental en 1975 cuando en colaboración

con Nigel Unwin publicó la primera evidencia de la capacidad de la criomicroscopía electrónica de obtener información estructural a alta resolución (34), al ser capaz de visualizar las α -hélices de una proteína, bacteriorrodopsina, para lo que se requiere una capacidad de resolución de 7 \AA . Esta información está lejos de la resolución atómica, pero Henderson persistió durante los siguientes 15 años, y después de resolver toda una serie de problemas técnicos de distinto tipo (otro ejemplo de perseverancia basado en la confianza institucional y la convicción científica personal), pudo por fin determinar la estructura tridimensional de la bacteriorrodopsina a resolución casi atómica ($3,5\text{ \AA}$), una hazaña técnica que demostró la verdadera potencialidad de la técnica (35).

Sin embargo, este estudio y los que les precedieron tenían una fuerte limitación: la estrategia para el análisis de las moléculas requería, como en el caso de la difracción de rayos X, la generación de estructuras ordenadas, fundamentalmente cristales. La alternativa para soslayar este importante cuello de botella es obtener información de las moléculas sin necesidad de tener que generar cristales, y es en el desarrollo de esta estrategia donde el tercero de los Premios Nobel de Química de este año, el alemán nacionalizado americano Joachim Frank, ha realizado la más importante contribución. Frank y colaboradores –trabajando fundamentalmente en el *Wadsworth Centre* de Albany, Nueva York- aplicaron principios de reconstrucción tridimensional tomográfica parecidos a los que se usan en Medicina con la Tomografía Axial Computerizada. Como se ha comentado anteriormente, la imagen que un microscopio electrónico genera de una muestra –por ejemplo, una proteína- corresponde a la proyección bidimensional (como si fuera una 'radiografía') de la estructura tridimensional de esa proteína en la orientación en que ha sido registrada. Si se registran muchas vistas de esa proteína en distintos ángulos –miles e incluso millones- de tal manera que cubran aproximadamente todas las orientaciones, es posible mediante tratamientos matemáticos llevar a cabo un proceso iterativo en el que se determinan las orientaciones de cada una de esas vistas y se utilizan para reconstruir tridimensionalmente la muestra, de manera que se puede determinar la estructura de esa proteína (Figura 1) (36).

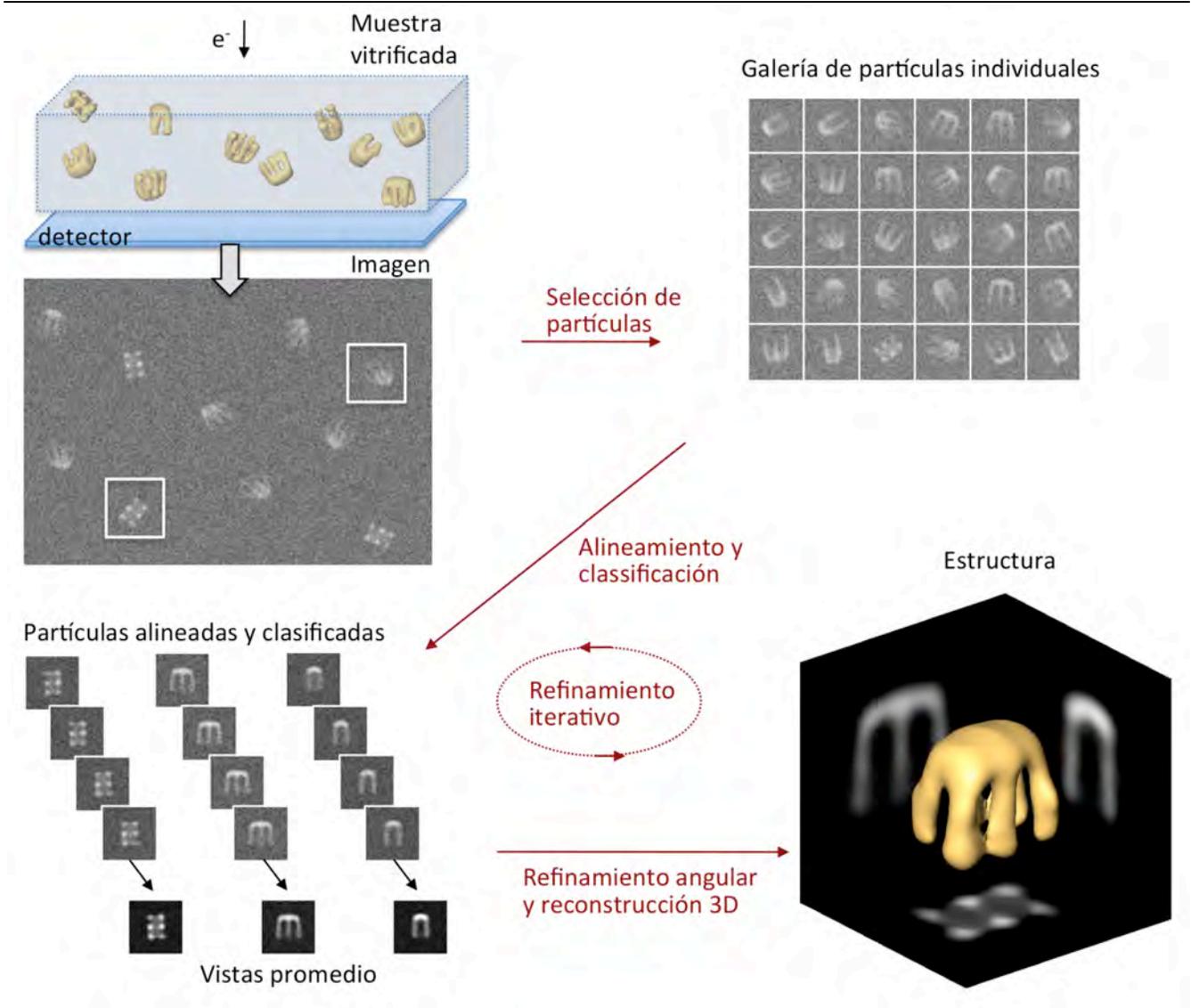


Figura 1. Procedimiento general para la determinación estructural de muestras biológicas. Las partículas de la muestra bajo estudio (en este caso una chaperona molecular llamada prefoldina) se encuentran dispuestas y orientadas al azar en la muestra vitrificada, y así son registradas por el microscopio electrónico. Se seleccionan y extraen imágenes de partículas individuales. Posteriormente, se alinean y clasifican y las imágenes de partículas de una misma clase se promedian para obtener imágenes de una mayor relación señal/ruido. La orientación relativa de las imágenes promedio se determina mediante técnicas de asignación angular, tras lo cual se realiza una reconstrucción tomográfica que genera la estructura 3D.

A partir de desarrollos de programas de refinamiento angular y reconstrucción tridimensional, Frank y otros grupos como los de Wah Chiu (en el *Baylor College of Medicine*, Houston), Wolfgang Baumeister (en el *Max Planck Institute* de Martinsried, Munich) ó Hong Zou (en la Universidad de California en Los Ángeles) consiguieron determinar las estructuras, primero a resolución subnanométrica y después a otras más cercanas a la atómica, de algunos grandes complejos proteicos como ribosomas o virus icosaédricos, sentando a lo largo de este proceso las bases de la criomicroscopía electrónica como herramienta de análisis estructural. No obstante, las estructuras resueltas a resolución atómica eran pocas y su determinación estaba en manos de un reducido número de investigadores con el talento y los medios suficientes para

atacar los múltiples problemas particulares que surgían con cada muestra.

La criomicroscopía electrónica estaba lejos de ser una técnica estructural rutinaria, con un nivel de estandarización similar al de la cristalografía de proteínas o la Resonancia Magnética Nuclear (RMN), y eso se debía a problemas de carácter técnico. El primero y más importante es el de la radiación electrónica, y es que los mismos electrones que se usan para obtener información sobre la estructura de la muestra acaban produciendo modificaciones estructurales irreversibles en ella. Para evitar este problema hay que reducir la dosis electrónica al mínimo, pero esto era técnicamente un escollo muy importante con la tecnología existente hasta hace poco tiempo, ya que tanto las placas fotográficas usadas hasta

hace 10 años como las cámaras CCD que las sustituyeron no eran lo suficientemente sensibles para reducir la radiación electrónica a los mínimos necesarios. La revolución en la criomicroscopía electrónica ha llegado con el reciente desarrollo de los detectores directos de electrones, basados en la tecnología CMOS (*Complementary Metal Oxide Semiconductor*), en cuyo diseño ha estado involucrado entre otros el propio Henderson (37). Estos detectores son muy sensibles, producen imágenes con una alta relación de señal sobre el ruido y, además, son también extremadamente rápidos en el registro de la información, de tal manera que en un segundo pueden registrar decenas de imágenes – fotogramas-. Esta rapidez permite compensar otro problema asociado con la radiación electrónica, el calentamiento local de la muestra allí donde es irradiada, que produce un movimiento y “difuminado” de la imagen registrada en los antiguos sistemas. Este problema, que destruía la información de los detalles estructurales a nivel atómico, deja de serlo ahora gracias al alineamiento y promediado de los “fotogramas”, que eliminan el difuminado de la información.

El segundo problema técnico es que los programas informáticos que manejaban las imágenes de las moléculas individuales –para su clasificación, promediado, reconstrucción tridimensional- no eran suficientemente buenos en la clasificación de las partículas y en el refinado angular a que se ha hecho mención anteriormente. La solución a este problema ha venido de la mano de la implementación de técnicas de “máxima verosimilitud”, desarrolladas entre otros en el grupo de José María Carazo en el Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) (38) y llevadas a su máximo nivel por Sjors Scheres (primero en el CNB y luego en el *Laboratory of Molecular Biology*) (39).

A estos dos desarrollos cruciales–los detectores directos de electrones y los programas de “máxima verosimilitud”-, se han unido otras importantes mejoras técnicas que tienen que ver con la automatización en la toma de imágenes y su tratamiento (indispensables para obtener las decenas de miles de proyecciones que se necesitan para resolver las estructuras a nivel atómico), así como en la mejora de la óptica y estabilidad de los propios microscopios electrónicos. La unión de todos estos factores ha dado como resultado lo que ha venido en llamarse la “resolution revolution”, un salto en la calidad de la criomicroscopía electrónica y a una “democratización” de la técnica –lo que ha permitido que decenas de grupos por todo el mundo estén realizando magníficos trabajos a muy alta resolución (40,41)-. La criomicroscopía electrónica ha dejado ya de ser la “hermana pequeña” de las técnicas estructurales y posee una enorme capacidad en la determinación estructural no sólo de pequeñas proteínas sino también grandes complejos macromoleculares. Además, y esto quizás es su mayor ventaja, está perfectamente adaptada para analizar los complejos transitorios que se forman de manera inestable entre conjuntos de proteínas –que son la mayor

parte de los que actúan en la célula– y que en principio no son tratables por difracción de rayos X ó RMN. Lo más interesante, si cabe, es que hay espacio para que la tecnología mejore mucho más, no sólo con el desarrollo de detectores de electrones más eficientes, sino también con mejores sistemas ópticos y con la introducción de otras tecnologías que están siendo implementadas. El camino para los estudios de biología estructural *in situ* en el interior celular es una frontera muy cercana que está siendo abordada ya con gran éxito mediante criotomografía electrónica (42). El futuro que se presenta para la criomicroscopía electrónica no puede ser más prometedor.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a las ayudas del Ministerio de Economía y Competitividad BFU2016-75984 (JMV) y BFU2014-54181 (JLC).

REFERENCIAS

1. Valpuesta JM. A la búsqueda del secreto de la vida. Una breve historia de la Biología Molecular. Madrid: Hélice-CSIC 2008.
2. Roentgen WC. Ueber eine neue Art von Strahlen. *Annalen der Physik und Chemie* 1898; 64: 1-11
3. Laue M von. *Kritische Bemerkungen zu den Deutungen der Photogramme von Friedrich und Knipping*. *Physikalische Zeitschrift* 1913; 14: 421–3.
4. Bragg WH. X-rays and crystalline structure. *Science* 1914, 40:795-802.
5. Hodgkin DC. The X-ray analysis of the structure of penicillin. *Adv Sci*. 1949; 6:85-9.
6. Sumner JB. The isolation and crystallization of the enzyme urease. *J. Biol. Chem.* 1926; 69: 435–41.
7. Northrop JH. Crystalline pepsin, 1: Isolation and tests of purity. *J. Gen. Physiol.* 1930; 13:739–66.
8. Pauling L. *The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals: An Introduction to Modern Structural Chemistry*. Cornell University Press 1931.
9. Mirsky AE, Pauling L. On the Structure of Native, Denatured, and Coagulated Proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1936; 22:439-47.
10. Astbury WT, Street A. X-ray studies of the structures of hair, wool and related fibres. I. General. *Trans. R. Soc. Lond.* 1931; A230: 75–101.
11. Pauling L, Corey RB, Branson HR. The structure of proteins; two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1951; 37:205-11.
12. Pauling L, Corey RB. The pleated sheet, a new layer configuration of polypeptide chains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1951; 37: 251-6.
13. Kendrew JC, Bodo G, Dintzis HM, Parrish RG, Wyckoff H, Phillips DC. A three-dimensional model of the myoglobin molecule obtained by x-ray analysis. *Nature* 1958; 181: 662-6.

14. Perutz MF, Rossmann MG, Cullis AF, Muirhead H, Will G, North AC. Structure of haemoglobin: a three-dimensional Fourier synthesis at 5.5-Å resolution, obtained by X-ray analysis. *Nature* 1960; 185: 416-22.
15. Johnson LN, Phillips DC. Structure of some crystalline lysozyme-inhibitor complexes determined by X-ray analysis at 6 Å resolution. *Nature* 1965; 206: 761-3.
16. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953;171: 737-8.
17. Watson JD, Crick FH. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* 1953;171: 964-7.
18. Wagner G, Wüthrich K. Amide proton exchange and surface conformation of the basic pancreatic trypsin inhibitor in solution. Studies with two-dimensional nuclear magnetic resonance. *J Mol Biol.* 1982; 160:343-61.
19. Ruska E. Nobel lecture. The development of the electron microscope and of electron microscopy. *Biosci Rep.* 1987; 7: 607-29.
20. Ruska H, Poppe K, Kausche GA. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie der Seiffertschen Mikroorganismen und des Erregers der Lungenseuche des Rindes. *Z Hyg Infektionskr.* 1947; 127: 201-15.
21. Amos LA, Henderson R, Unwin PN. Three-dimensional structure determination by electron microscopy of two-dimensional crystals. *Prog Biophys Mol Biol.* 1982; 39: 183-231.
22. Williams RC, Wyckoff RWG. Electron shadow micrograph of the tobacco mosaic virus protein. *Science* 1945, 101: 594-6.
23. Pearse DC, Baker RF. Sectioning techniques for electron microscopy using a conventional microtome. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med* 1948; 67: 470-74.
24. Brenner S, Horne RW. A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses. *Biochim. Biophys. Acta* 1959; 34: 103-10.
25. Palade GE, Claude A. The nature of the Golgi apparatus; parallelism between intercellular myelin figures and Golgi apparatus in somatic cells. *J Morphol.* 1949; 85: 35-69.
26. De Duve C. The separation and characterization of subcellular particles. *Harvey Lect.* 1965; 59: 49-87.
27. Hodge AJ, Huxley HE, Spiro D. Electron microscope studies on ultrathin sections of muscle. *J Exp Med.* 1954; 99: 201-6.
28. Caspar DL, Klug A. Physical principles in the construction of regular viruses. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 1962; 27: 1-24.
29. Klug A, Berger JE. An optical method for the analysis of periodicities in electron micrographs, and some observations on the mechanism of negative staining. *J Mol Biol.* 1964; 10: 565-9.
30. Klug A, De Rosier DJ. Optical filtering of electron micrographs: reconstruction of one-sided images. *Nature* 1966; 212: 29-32.
31. De Rosier DJ, Klug A. Reconstruction of three dimensional structures from electron micrographs. *Nature* 1968; 217: 130-4.
32. Lepault J, Booy FP, Dubochet J. Electron microscopy of frozen biological suspensions. *J Microsc.* 1981; 129: 89-102.
33. Henderson R, Raeburn C, Vigers G. A side-entry cold holder for cryo-electron microscopy. *Ultramicroscopy* 1991; 35: 45-53.
34. Henderson R, Unwin PN. Three-dimensional model of purple membrane obtained by electron microscopy. *Nature* 1975; 257: 28-32.
35. Henderson R, Baldwin JM, Ceska TA, Zemlin F, Beckmann E, Downing KH. Model for the structure of bacteriorhodopsin based on high-resolution electron cryo-microscopy. *J Mol Biol.* 1990; 213: 899-929.
36. Frank J. *Averaging of low-exposure electron micrographs of non-periodic objects.* *Ultramicroscopy* 1975; 1: 159-62
37. Faruqi AR, Cattermole DM, Henderson R, Mikulec B, Raeburn C. Evaluation of a hybrid pixel detector for electron microscopy. *Ultramicroscopy* 2003; 94: 263-76.
38. Scheres SH, Valle M, Nuñez R, Sorzano CO, Marabini R, Herman GT, Carazo JM. Maximum-likelihood multi-reference refinement for electron microscopy images. *J Mol Biol.* 2005; 348: 139-49.
39. Scheres SH. RELION: implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination. *J Struct Biol.* 2012; 180: 519-30.
40. Banerjee S, Bartesaghi A, Merk A, Rao P, Bulfer SL, Yan Y, Green N, Mroczkowski B, Neitz RJ, Wipf P, Falconieri V, Deshaies RJ, Milne JL, Huryn D, Arkin M, Subramaniam S. 2.3 Å resolution cryo-EM structure of human p97 and mechanism of allosteric inhibition. *Science* 2016; 351: 871-5.
41. Bartesaghi A, Merk A, Banerjee S, Matthies D, Wu X, Milne JL, Subramaniam S. 2.2 Å resolution cryo-EM structure of β-galactosidase in complex with a cell-permeant inhibitor. *Science* 2015; 348: 1147-51.
42. Beck M, Baumeister W. Cryo-Electron Tomography: Can it Reveal the Molecular Sociology of Cells in Atomic Detail? *Trends Cell Biol.* 2016; 26: 825-837.



VII Encuentro de Academias de Farmacia Iberoamericanas, Asunción, Paraguay, 16-24 Septiembre 2017

Bartolomé Ribas Ozonas

Académico Secretario de la Real Academia Nacional de Farmacia

e-mail: secretaria@ranf.com

El martes 19 de septiembre de 2017 se inició con un acto inaugural el Encuentro de Academias de Farmacia Iberoamericanas en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional San Lorenzo.

A las 09:30 se interpretó el Himno Nacional de Paraguay, todos puestos en pie y en silencio.

Se continuó con el Acto de incorporación a la “Academia Iberoamericana de Farmacia” de los Académicos D. Andrés Amarilla, de Paraguay, y de D. Lauro D. Moretto, de Brasil.

Presidió el acto el Presidente de la Academia Iberoamericana de Farmacia, el español D. Alberto Ramos Cormenzana; y el Canciller del acto: Académico D. Blas A. Vázquez, de Asunción, Paraguay.

Continuaron los discursos de incorporación de los Académicos D. Andrés Amarilla y de D. Lauro D. Moretto. El discurso de contestación corrió a cargo del mencionado Presidente de la Academia.

Inauguración del Encuentro de las Academias

Palabras de Bienvenida

09:15. Palabras de bienvenida del Presidente de la Academia de Ciencias Farmacéuticas de Paraguay, Acad. Dr. Blas A. Vázquez.

09:20. Palabras del Presidente del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-CONACYT, el Prof. Ingeniero D. Luis A. Lima Morra.

09:30. Palabras del Presidente actual de la Asociación Iberoamericana de Academias de Farmacia, el Académico D. Andrés Amarilla.

09:45. Conferencia Plenaria, con el título: *Génesis, Evolución, Vigencia y Desafío, por el Acad. Prof. Dr. Aquiles Arancibia Orrego*, de Chile.

10:15. Breve intermedio artístico, con baile por los estudiantes de la Facultad de Ciencias Químicas.

Pausa (Café)

10:30. Visita a los Departamentos de la Facultad de Ciencias Químicas, Biblioteca, Farmacia, Bioquímica, Ingeniería, Química y Botánica.

Se continuó con la visita del “Jardín de plantas autóctonas y medicinales”, que despertó gran interés por sus cultivos, una explicación de sus propiedades, tanto de las especies criptógamas como de fanerógamas, con su gestión, evolución, y futuro desarrollo.

Programa científico

11:30. Visita a Laboratorios Éticos, fuimos recibidos por su Director, quien nos explicó los medicamentos de su producción, fabricación, control y distribución mundial.

12:30. Brindis por el Encuentro.

Transporte al Auditorio de la Facultad de Ciencias Químicas, UNA, San Lorenzo.

14:30. Exposición: Investigación en plantas medicinales en el Paraguay. Acad. Dra. Rosa Degen; Acad. Dr. Nelson Alvarenga; Acad. Dr. Derlis Ibarrola, de la Academia de Ciencias Farmacéuticas del Paraguay.

15:30. Mesa redonda. Con el título: Aporte de la sistemática clásica en la búsqueda de nuevos principios activos. Intervención del Acad. Dr. Alberto Gurmi, de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica de Argentina.

Segunda ponencia: Legislaçao brasileira para registro de medicamentos fitoterápicos. Por el Acad. Dr. Lauro D. Moretto, de la Academia Nacional de Farmacia, de Brasil.

Proyecto de Plan Nacional de Plantas Medicinales y Fitoterapia. Paraguay, por el Acad. Dr. Esteban Ferro, de la Academia de Ciencias Farmacéuticas del Paraguay.

Seguidamente, tuvo lugar una animada e interesante discusión.

17:15. Mesa redonda, sobre Análisis de medicamentos. Tuvo como primer título: Control de calidad de medicamentos y principios activos, por métodos homologados. Por el Académico de la Real Academia Nacional de Farmacia de España, D. Bartolomé Ribas Ozonas, quien disertó sobre los diferentes bioensayos con animales: daphia (*Daphnia magna*); lombriz de tierra (*Eisenia foetida*); peces (*Brachydanio rerio* y *Oryzias latipes*), algas (*Scenedesmus capricornutum*; y *S. subspicatus*), llevados a cabo por laboratorios de ensayos. Todo ello dentro de un Sistema de control de calidad, y técnicas homologadas aceptadas en todo el mundo. Añadió algunos dípteros, (moscas) *Parasarcophaga argyrostoma*, la mosca amarilla, y la cucaracha, métodos OCDE (Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo), y aceptados por las organizaciones internacionales OMS, Agencia Europea del Medicamento; la de Alimentación análoga a la Food and Drug Administration de EE.UU. La Agencia de Medicamentos Veterinarios, etc. Y mencionó otros seres vivos aplicados en los ensayos biológicos de medicamentos principios activos, residuos y vertidos de diferente tipo y naturaleza. Todos ellos ensayos válidos de calibración, cultivos celulares de competencia y técnicas contrastadas y autorizadas, con resultados de seguridad, eficacia y eficiencia.

La segunda ponencia, con el título: Estudio comparativo de los métodos de análisis y control de medicamentos en las modernas farmacopeas. Estuvo a cargo del Acad. D. Benito del Castillo García, que representaba a la Academia de Farmacia de Castilla y León, y Vicepresidente de la Real Academia Nacional de Farmacia, España.

Al día siguiente, miércoles 20 de septiembre de 2017.

Auditorio de Laboratorios Catedral, Asunción.

08:30. Conferencia sobre Optimización de la dispensación de medicamentos a través de las nuevas tecnologías. A cargo del Acad. Dr. Antonio M. Rabasco, de la Academia Iberoamericana de Farmacia, España.

Entre otros temas, comentó el trascendental e importante servicio social y humano de los “Farmacéuticos sin Fronteras”, y describió sus funciones, ayudas y significado en los tratamientos de enfermedades con medicamentos, para los que numerosas comunidades no tienen acceso. Y además proporcionan medicamentos esenciales y específicos para las enfermedades que padecen dichas comunidades, aisladas humana y geográficamente.

La moderadora Dña. Inés Fuentes alabó dicha exposición que abrió un interesante diálogo.

09:15. Pausa y café.

09:30. Mesa redonda. Sobre Bio可比ables y su regulación. Primera conferencia a cargo de la Acad. Dra. Inés Fuentes Noriega, Presidenta de la Academia Nacional de Ciencias Farmacéuticas de México.

Dña. Inés Fuentes se extendió sobre la trascendencia para los farmacéuticos y para los planes de estudio en las Facultades de Farmacia, de la farmacología de y de la biocompatibilidad de los medicamentos y principios activos, la preparación teórica y práctica experimental de estudios preclínicos, bioquímicos y químico-estructurales también con finalidad para farmacéuticos de Hospitales. Todo ello se contempla en las Normativas de México de 2013. Señaló que deben realizarse estudios multicéntricos. Debe existir un Comité de Ética, antes para medicamentos genéricos y ahora para los Biotecnológicos. Una corresponsabilidad físico-química y analítica y validar los parámetros de los biofármacos y su estabilidad termodinámica. Conocimiento y formación para el uso y práctica de animales de laboratorio, su genética, y su aplicación en animales transgénicos, y controlado por un “Comité de Seguridad Animal”, con objeto de la biocompatibilidad medicamentosa. Empleo de líneas celulares y anticuerpos monoclonales. Formación no solo en farmacocinética sino también en farmacogenómica. Su caracterización fisicoquímica, su posología, fármaco-vigilancia. Y la relevancia en sus efectos en orden a su eficacia, seguridad y eficiencia. Destacó la importancia en la práctica, de la administración de los productos biotecnológicos con un 20 % en la práctica general y un 50 % en hospitales de México. Comentó que existe un vacío legal en la biotecnología de los biosimilares debido a que la investigación va por delante de la legislación. Como Conclusión, señaló que existen muchos retos, sobre los Comités de evaluación, en beneficio de las grandes esperanzas de vida, curación y mejoría de enfermedades, para alcanzar una mayor y paulatina longevidad activa.

Le siguió la también atractiva e interesante conferencia de la Académica Dña. Carmen Sandoval Moraga, de la Academia de Ciencias Farmacéuticas de Chile, que disertó sobre: Biosimilares: Aspectos legales, avances en su implantación y uso en Chile. La Académica Sandoval departió sobre medicamentos biosimilares, que son más cercanos y completos que los biológicos por su material genético y también más complejos y preocupantes por complejidad de producción y elaboración. Debido a su complejidad y heterogeneidad se ha desarrollado un mismo regulatorio. Hay entre estos un grado de variabilidad acusado.

El Acad. D. José Juárez Eyzaguirre, de la Academia de Farmacia del Perú. Disertó sobre El desafío de los biosimilares en el Perú. Que fue seguida por un interesante y atractivo dialogo.

11:15. Pausa y café.

11:30. Tuvo lugar la Mesa redonda sobre “Impacto económico de los tratamientos con productos biotecnológicos”. Disertó el Académico D. Jaime Piulats, de la Academia de Farmacia de Cataluña, España, quien disertó sobre: “Biosimilares: seguridad, eficacia y sostenibilidad”. Disertó sobre la historia de los medicamentos y en relación con la inmunología.

Fue seguida de interesante discusión.

12:40. Pausa y café.

14:00. Mesa redonda con el título: “Bacterias: aspectos da biotecnología de producto de vitaminas, antimicrobianos peptídicos e outras moléculas activas”, en la que disertó el Acad. Dr. León Rabinovitch, de la Academia Nacional de Farmacia. Brasil.

Y seguidamente nos deleitó el Acad. Dr. Claude Monneret. Presidente Honorario de la Academia Nacional de Farmacia de Francia, con el título: “Monoclonal antibodies conjugates as potent anticancer drugs”.

Todas las conferencias fueron seguidas de interesante discusión.

15:15. Se comentaron “Recomendaciones”, por el Académico Dr. Josep María Ventura Ferrero, de la Real Academia de Farmacia de Cataluña, España, quien habló sobre una serie de recomendaciones dignas a tener en cuenta.

15:45. Pausa y café.

16:00. Conclusiones.

16:30. Asamblea General Ordinaria de la A.I.A.F. Durante la vual se dialogó sobre la Conveniencia de disponer de unos Estatutos a seguir representando la Academia dentro de la Ley, con sus fines científicos, para próximos encuentros. Para dicho fin se nombró una Comisión de tres cargos, uno de legua española y otro de legua portuguesa y de ambos continentes: nombrándose por parte española y europea al Académico D. Alberto Ramos Cormenzana, a D. Lauro Moretto, de lengua portuguesa, y a D. Fernando Quevedo Presidente del próximo Encuentro en Perú.

Se decidió que el próximo Encuentro (2019) sea organizado por la Academia Iberoamericana de Farmacia, cuyo Presidente es D. Alberto Ramos Cormenzana. Y el próximo allende los mares en 2021 sea organizado por la Academia de Farmacia de Perú, a propuesta del Presidente D. Fernando Quevedo, que fue aceptado.

Otros comentarios

También se hicieron comentarios sobre los fines mencionados en Reuniones anteriores, como que el objetivo primordial de las Academias, es, la divulgación del conocimiento científico a la población en general y el asesoramiento a las autoridades sanitarias y profesionales afines.

La educación y formación de la Sociedad, con preferencia de la juventud, futuro de la misma. Para ello consideramos esencial el contacto con los Institutos y Colegios de Enseñanza.

Posicionamiento, opinión profesional e independiente de las Academias en el asesoramiento a las autoridades sanitarias, farmacéuticas y profesionales afines y sociedad en general, para el bienestar y calidad de vida de la humanidad.

Se consideran todos estos objetivos dentro del contexto de lo aconsejado por Su Majestad el Rey Felipe VI, con la difusión indispensable a los medios de comunicación y aplicación de las Tecnologías de la Información y de las Comunicaciones, para el conocimiento de las Academias por la sociedad en general y en beneficio de la Humanidad.

Temas de difusión de las Academias a la Sociedad, son:

Origen, desarrollo del medicamento / Registro y control / Vacunas / fármacos / productos innovadores / genéricos / productos biológicos / biosimilares / medicina regenerativa / terapéutica del dolor y su prevención / plantas medicinales / otros.

Farmacovigilancia y asesoramiento a los Ministerios de Sanidad / seguimiento del medicamento / que es el medicamento y objetivo de eficacia, dosis-efecto / seguridad / adherencia / posología/ eficacia y eficiencia / medicamentos en internet y ante la patología y automedicación / confianza en los efectos ante el fraude, el engaño y la adulteración / eficacia medicamentosa y curación de la enfermedad / evidencia de la composición del efecto farmacológico en interés del paciente /

Bartolomé Ribas Ozonas
Académico Secretario RANF



Información académica

Bartolomé Ribas Ozonas

Académico Secretario de la Real Academia Nacional de Farmacia

e-mail: secretaria@ranf.com

Durante el cuarto trimestre del año 2017 se realizaron doce sesiones científicas, de las cuales una toma de posesión de Académica Extranjera, tres Conferencias, cinco Mesas Redondas, dos Jornadas Científicas, “Cátedra Juan Abelló de medicina del dolor” y “Cátedra Pedro Guillén de medicina regenerativa”, una Sesión Conmemorativa de los “Premios Nobel 2017” y una presentación de libro.

El 4 de octubre la Real Academia Nacional de Farmacia en colaboración con Lilly tuvieron el honor de presentar el libro “Las Medicinas de la Historia Española en América” (“Medicines of Spanish History in America”), editado por la Fundación Lilly y la Universidad de Santiago de Compostela. El acto fue presidido por el Excmo. Sr. D. Mariano Esteban Rodríguez, Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia. Actuaron como ponentes los Dres. Dña. Pilar Goya Laza, Presidenta de la Sociedad Española de Química Terapéutica, D. Francisco Zaragoza, Catedrático de Farmacología de la Universidad de Alcalá, y el Ilmo. Sr. D. Enrique Raviña Rubira, Académico Correspondiente de la RANF y autor del libro, que agradeció a todos su participación y ayuda.

Se resumió en inglés que: The discovery of America by the Spanish meant a new source of drugs. The great biodiversity of the New World territories provided many new medicinal plants species and crude drugs, which were incorporated to the armamentarium and pharmacopoeias of these times. This book is devoted to medicines discovered after the Spanish settlement of America. The book is beautifully illustrated containing about 200 pictures (139 color photographs), many of them of a great historical value. The legendary Spices Trade Routes. Spanish contribution to the study of preColumbian civilizations. Expeditions to the American Continent. Expeditions of the botanists Francisco Hernández (16th Century); Charles-Marie de la Condamine, Jorge Juan, Antonio de Ulloa; Hipólito Ruiz and José Pavón; Alexander von Humboldt and Aimé Bonpland (18th Century); Richard and Robert Schomburgk brothers, Eduard Poeppig and others (19th Century). Discovery of medicinal plants from American origin. Study of Three Cs crude drugs: COCA, CINCHONA, CURARE. Ipeca and others drugs; their study and use in the Medicine of New World’s territories and its introduction in Europe. Isolation of the active components; chemical structure, structural variations and evolution to modern drugs (Local Anaesthetics. Antimalarial drugs analogous of Quinine. Neuromuscular blocking agents: Natural curare and synthetic curare-like drugs in the Surgical Anaesthesia).

El 5 de octubre la Real Academia Nacional de Farmacia celebró la Conferencia “Biosimilares: Experiencia en la aproximación de un grupo Farmacéutico español a la biotecnología”, a cargo del Dr. D. Enrique Ordieres, Presidente de los Laboratorios CINFA. Los medicamentos biotecnológicos, expuso, ofrecen una oportunidad en el tratamiento de enfermedades que hasta ahora no tenían opciones terapéuticas. La biotecnología está creciendo de forma exponencial en los últimos años, pero con un gran coste tanto en la Investigación y Desarrollo para las compañías farmacéuticas como en la financiación para los sistemas sanitarios. Señaló que se trata de compartir la experiencia de los Laboratorios CINFA, como grupo farmacéutico español de tamaño mediano, que decide introducirse en el campo de la Farmacia Industrial. La complejidad del nuevo mundo biotecnológico, sus altas inversiones tienen un riesgo asociado a un mercado global, lleno de incertidumbre y de grandes competidores. Fue presentado por el Académico de Número, el Excmo. Sr. D. Antonio Monge Vega.

El 19 de octubre la Real Academia Nacional de Farmacia celebró la Conferencia titulada: “La ‘droga milagrosa’. Aspectos sociales, técnicos y económicos relativos a la introducción de la penicilina en España (1944-1959)” a cargo del Ilmo. Sr. D. Antonio Isacio González Bueno, Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. El Dr. González Bueno analizó el proceso de introducción de la penicilina en España desde varias vertientes: los proyectos que conllevaron a su fabricación por empresas nacionales, dentro de la política autárquica trazada por las autoridades españolas durante el franquismo; las solicitudes, por parte de empresas españolas, de patentes de invención concernientes a procesos

industriales relacionados con la penicilina; su difusión desde los medios de comunicación y la visión que de ella ofrecen los profesionales del medicamento y la repercusión social que la introducción del producto tuvo en España. Fue presentado por el Académico de Número, Excmo. Sr. D. Francisco Javier Puerto Sarmiento.

El 26 de octubre tuvo lugar la la “3ª SESIÓN DE LA “CÁTEDRA JUAN ABELLÓ”, "Los canales TRP en la señalización sensorial y dolorosa, farmacología actual". Presidida por el Excmo. Sr. D. Mariano Esteban, el Excmo. Sr. D. Juan Abelló y el Excmo. Sr. D. Bartolomé Ribas. La organización y presentación de la Sesión corrió a cargo de la Excm. Sra. Dña. Mª Teresa Miras Portugal. Actuaron como ponentes el Prof. Antonio Ferrer Montiel, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad Miguel Hernández, con la conferencia "Canales TRP: Sensores Nociceptivos". El sistema nervioso nociceptivo juega un papel central en la comunicación con el entorno medioambiental, transduciendo estímulos químicos y físicos, en impulsos nerviosos que son interpretados por el cerebro. De esta manera, percibimos si hace frío o calor, cambios de presión, y si estamos ante estímulos potencialmente nocivos. Esta capacidad integrativa e interpretativa del entorno es posible gracias a la presencia de una familia de canales iónicos, conocidos como TRPs (receptores de potencial transitorio), capaces de reconocer y responder a estímulos físicos y químicos. Los canales TRP fueron inicialmente identificados en 1969 por Cosens y Manning en el sistema visual de la mosca *Drosophila melanogaster*, y el primer TRP fue clonado en 1989 por Montell y Rubin. Desde entonces, la familia ha crecido hasta los 28 miembros organizados en 8 familias. Los canales TRP constituyen una familia de canales sensoriales que responden a sustancias químicas, temperatura y presión facilitando el flujo de cationes a través de la membrana neuronal. Los canales TRP que responden a temperatura, conocidos como termo-TRPs, fueron inicialmente identificados por David Julius en 1997, representando un hecho rompedor en la neurobiología sensorial. Además de este hito, el grupo de Julius, con la colaboración de Yifan Cheng, resolvió en 2013 la estructura atómica del primer canal TRP, el TRPV1, permitiendo avanzar en nuestro conocimiento sobre cómo funcionan estos canales iónicos en función de su estructura proteica, e identificando potenciales sitios para el desarrollo de herramientas farmacológicas que faciliten el estudio de sus funciones fisiológicas y que, además, puedan desarrollarse terapéuticamente para el tratamiento de patologías.

El Prof. Carlos Belmonte, Catedrático Emérito de Fisiología General y Especial en la Universidad Miguel Hernández de Alicante, expuso el tema: "Canales TRP, nuevos actores en la detección del dolor y la sequedad de las mucosas". El descubrimiento de los canales TRP ha abierto nuevas perspectivas en la comprensión de cómo los estímulos físicos y químicos, inocuos o lesivos, son transformados en señales nerviosas que, transmitidas al cerebro evocan sensaciones conscientes de diferente modalidad. Hoy día está bien establecido que los canales TRP juegan un papel crítico en la transducción de las sensaciones de dolor y temperatura. Pero además, hallazgos recientes sugieren que los canales TRP son también fundamentales para la detección del grado de hidratación de las superficies mucosas expuestas al medio ambiente (ojos, mucosa oral y vaginal). Ello contribuye a modular reflejamente la secreción de lágrima y saliva o la ingesta de agua y mediando en las sensaciones de sequedad y dolor que aparecen en las patologías como el ojo seco, la boca quemante o la sequedad vaginal.

Y el Prof. Juan Tamargo, Catedrático de Farmacología en la Universidad Complutense de Madrid y Académico de Número de la RANF, expuso su conferencia con el título: "Farmacología actual de los TRP". Clausuró el acto el Excmo. Sr. Don Juan Abelló Gallo.

El 2 de noviembre la Real Academia Nacional de Farmacia, en colaboración con la Fundación José Casares Gil, ofreció la Mesa Redonda sobre: “Nanosistemas mesoporosos polivalentes para enfermedades de hueso”. Por ausencia del Presidente de la RANF, estuvo presidida por el Secretario General D. Bartolomé Ribas Ozonas, que tuvo palabras de elogio para el Académico D. Antonio Luis Doadrio Villarejo que ideó esta interesante Mesa Redonda. Asimismo alabó de forma encomiable la magnífica labor de dirección de la eminente e internacionalmente conocida Profesora y Académica Dña. María Vallet Regí, quien se hizo cargo de la presentación y coordinación de la dicha mesa redonda.

Expuso de forma magistral que la búsqueda de soluciones reales adaptables a problemas complejos en el ámbito biomédico es un desafío científico-tecnológico actual. En esta mesa redonda se abordaron aspectos de la nanotecnología aplicada al tratamiento de tres patologías óseas complejas, osteoporosis, cáncer e infección. Este reto se engloba dentro de los objetivos propuestos en el proyecto VERDI, liderado por la Profesora Vallet Regí, en el cual se diseñará un nanosistema multifuncional y versátil a partir del ensamblaje de diversos bloques de construcción en una misma nanoplataforma. Las nanopartículas de sílice mesoporosa constituyen el componente principal de la nanoplataforma debido a su biocompatibilidad, robustez, capacidad de carga y versatilidad en cuanto a la modificación química de su superficie. El objetivo final es la construcción de una caja de herramientas que contenga los elementos necesarios para poder seleccionar los bloques de construcción (ligandos de vectorización, agentes terapéuticos y componentes estímulo-respuesta) adecuados en función de la enfermedad a tratar. Esta estrategia permitirá crear una librería de nanomedicamentos aptos para ser considerados en posteriores ensayos clínicos.

Actuaron como ponentes el Dr. Alejandro Baeza García, del Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica en la Facultad de Farmacia de la UCM, con el título: "Nuevas estrategias para el diseño de nanotransportadores selectivos en terapia antitumoral". Alejandro Baeza se licenció en Química Orgánica por la Universidad de Oviedo en 2002 y

posteriormente obtuvo el doctorado en Química Orgánica en la Universidad de Alcalá en el 2007, trabajando en el campo de la síntesis y evaluación de derivados de alcaloides marinos con alta actividad antitumoral. Posteriormente, realizó una estancia postdoctoral 2008-2009 en el grupo del Prof. Feringa (Premio Nobel de Química 2016) donde trabajó en el desarrollo de nuevos métodos catalíticos para la obtención de building blocks de alto valor añadido en la industria farmacéutica. En el año 2009 se incorporó como investigador doctor en el grupo de la Prof. María Vallet-Regí donde se encuentra actualmente desarrollando su investigación en el campo de los nanotransportadores inteligentes para aplicación en terapia antitumoral.

Le siguió como ponente la Dra. Montserrat Colilla Nieto, Profesora Titular del Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia de la UCM, con la conferencia titulada "Nanosistemas mesoporosos selectivos con capacidad estímulo-respuesta para terapia antitumoral". La profesora Montserrat Colilla nació en 1975 en Madrid, España. Estudió Química en la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) y se doctoró en la misma Universidad en 2004 en el área de híbridos orgánicos e inorgánicos y compuestos de intercalación en arcillas para el desarrollo de sensores electroquímicos. Desde 2011 es Profesora Titular en el Departamento de química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM). Sus intereses de investigación se centran en materiales mesoporosos de sílice para aplicaciones biomédicas. Tiene numerosas publicaciones en revistas científicas internacionales. Sus líneas de investigación actuales se enmarcan en el campo de las nanopartículas de sílice mesoporosa con aplicaciones en terapia contra el cáncer y la infección bacteriana.

Le siguió como ponente la Dra. Isabel Izquierdo Barba, también del Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica en la Facultad de Farmacia de la UCM, con "Nuevas estrategias para el diseño de nanotransportadores en el tratamiento de la infección ósea". Isabel Izquierdo Barba se licenció en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid en 1997 y posteriormente obtuvo el doctorado en Farmacia en misma Universidad en el 2002, trabajando en el diseño, síntesis y caracterización de biocerámicas para la regeneración del tejido óseo, bajo la dirección de la Prof. Vallet Regí y del Dr. Salinas. Posteriormente realizó una estancia postdoctoral 2005-2007 en el grupo del Prof. Terasaki (Universidad de Estocolmo, Suecia) donde trabajó en la caracterización mesoestructural por microscopía electrónica de Transmisión. En el año 2007 se incorporó con un contrato Ramón y Cajal en el grupo de la Prof. Vallet Regí de la UCM donde trabajó en materiales mesoporosos como sistemas de liberación controlada de fármacos. Actualmente es Profesor Contratado Doctor en la UCM donde se encuentra desarrollando su investigación en el campo de los nanotransportadores inteligentes para aplicación en infección ósea.

Continuó en el uso de la palabra el Dr. Miguel Manzano García, Prof. Titular departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia en la UCM, con el título: "Nanosistemas mesoporosos polivalentes para el tratamiento de osteoporosis". El Dr. Miguel Manzano nació en Madrid, en el año 1976. Completó sus estudios en Química Orgánica en la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) en el año 2000. Realizó el Doctorado en la School of Biomedical and Biological Sciences de la Univeristy of Surrey (UniS) en el Reino Unido en el año 2004. Obtuvo una plaza de Profesor Ayudante en el año 2005 en el Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM). En el año 2011 realizó una estancia postdoctoral en el Massachusetts Institute of Technology (MIT) en los EE.UU. en el laboratorio del prof. Robert Langer. A su regreso a España obtuvo una plaza de Profesor Contratado Doctor en 2013 y en 2017 una plaza de Profesor Titular de universidad en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (UCM).

Y le siguió como ponente la Dra. Blanca González Ortiz, que es Prof. Titular en el Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia en la UCM, que disertó sobre: "Nanosistemas mesoporosos polivalentes para el tratamiento del cáncer". La Profesora Dña. Blanca González nació en 1974 en Madrid, España. Se licenció en Química en la Universidad Autónoma de Madrid (1998) y se doctoró en la misma universidad (2003) en el campo de las macromoléculas organometálicas electroactivas. En 2006 se trasladó al Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, donde actualmente ocupa un puesto de Profesora Titular. Sus intereses de investigación se centran en materiales híbridos orgánico-inorgánicos, que incluyen macromoléculas dendríticas y biocerámicas, para aplicaciones biomédicas. Actualmente desarrolla su investigación en el campo de las nanopartículas de sílice mesoporosa para el tratamiento de patologías como cáncer e infección.

El 16 de noviembre tuvo lugar la Toma de Posesión como Académica Extranjera de la Prof. Dra. Cristina Branquinho Fernandes, del Centro de Ecología y Biología Ambiental, Facultad de Ciencias de la Universidad de Lisboa, Portugal. Su conferencia de ingreso se tituló: "Anticipating global tipping points using ecological indicators: climate change, eutrophication and chemical pollution". Fue presentada por el Excmo. Sr. D. Bartolomé Ribas Ozonas, Académico Secretario General de la Real Academia Nacional de Farmacia; y leyó unas palabras enviadas para ese acto de la ex Vicerrectora de la misma Universidad Excmo. Sra. Dña. María Amelia Martins Louçao, alabando la línea investigadora de la recipiendaria sus cualidades y virtudes humanas y agradeciendo la colaboración de amistad hispano-portuguesa.

El 23 de noviembre, la Real Academia Nacional de Farmacia en colaboración con la Fundación José Casares Gil celebraron la Conferencia sobre: "Problemas imprevistos en salud y medio ambiente derivados del uso generalizado de las

energías renovables: un reto a resolver", a cargo del Ilmo. Sr. D. Eduardo Costas, Catedrático de Genética en la Facultad de Veterinaria de la UCM, Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. Su presentación estuvo a cargo de la Académica de Número, Excm. Sra. Dña. María Teresa Miras Portugal. El Profesor Eduardo Costas es Doctor en Biología. Catedrático de Genética en la Facultad de Veterinaria de la UCM, Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia. En investigación básica se ha dedicado a la adaptación rápida de microorganismos al cambio global siendo Investigador principal en más de 30 proyectos competitivos (UE, Plan Nacional...) y publicando cerca de 200 artículos científicos (Nature, New England J Medicine, Proc. Royal Soc, Water Res, New Phytol, J Mol Evol,), con casi 3500 citas y un índice H = 34. Como investigador aplicado dedicado a la biotecnología ambiental ha dirigido más de 50 contratos de transferencia tecnológica a empresas (Iberdrola, Uralita, Urbaser, Canal Isabel II, Acciona...), inventor de 6 patentes y promotor y socio fundador de las empresas de base tecnológica BES SL y SouthTEK SL. Es experto evaluador de proyectos para US Department of Commerce, NOAA, OCDE y UE. En la actualidad trabaja en aplicaciones biotecnológicas para los sectores de energías renovables y nuclear. Ha recibido diversos premios (mejor plan de empresa de EBT universitaria, mejor empresa tecnológica...).

En su conferencia nos habló sobre que existe un consenso generalizado de que el incremento de gases de efecto invernadero como consecuencia de la quema de combustibles fósiles es el mayor peligro al que se enfrenta hoy en día la humanidad. El Acuerdo de París de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático lo deja bien claro: solo el uso generalizado de las energías renovables o nucleares, capaces de frenar el calentamiento global, pueden asegurar nuestro futuro. Las renovables aparecen como una excelente opción: la energía que nos llega del sol ($\approx 1.74 \times 10^{17}$ W) es 11.600 veces mayor que el actual consumo total de la humanidad ($\approx 1.5 \times 10^{13}$ W). Para garantizar el éxito de las renovables, es imprescindible abordar una serie de problemas para el medio ambiente y la salud que presentan estas energías, algo que no se abordó a su debido tiempo, al asumir que las renovables eran per se energías limpias. Los mayores problemas derivan de la baja potencia obtenida por unidad de superficie (p.e. una planta fotovoltaica necesita 5000 veces más superficie para producir la misma energía que una central nuclear). La ocupación antropogénica del espacio es una de las principales causas de la actual crisis de la biodiversidad. Buena parte de los más reputados ecólogos evolutivos -con E.O. Wilson a la cabeza- proponen que dejar sin ocupar la mitad de la tierra es la única manera de sobrevivir y algunos de ellos, como J. Lovelock, sostienen que eso solo se podrá hacer mediante el incremento de la energía nuclear. También existen problemas concretos asociados a los distintos tipos de energías renovables. Algunos ejemplos: La contaminación difusa y por vertidos de sustancias peligrosas para la salud y el ambiente que forman parte del fluido térmico de plantas termosolares es, sin duda, un problema serio, incrementado por la gran superficie que ocupan estas plantas. Los embalses para aprovechamiento hidroeléctrico ya han alterado la circulación estuárica en muchos lugares, planteando problemas de erosión, enorme pérdida de productividad pesquera, contaminación e incremento de microorganismos tóxicos (de los que el Ebro y el Guadalquivir son un buen ejemplo). Los parques eólicos están precipitando la extinción de ciertas especies, desde el urogallo a murciélagos. Y hay más... Pero todos estos problemas tienen solución (incluso la ocupación del espacio puede minimizarse, planificando zonas no ocupadas y diseñando pasillos para interconectarlas). Afrontarlos cuanto antes, con sinceridad y profesionalidad es la mejor vía para resolverlos, asegurando el éxito de las renovables y con ello, nuestro éxito.

El 28 de noviembre, tuvo lugar la sesión científica extraordinaria conjunta de la Real Academia de Ingeniería, Real Academia Nacional de Medicina, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales y Real Academia Nacional de Farmacia: "Nanotecnologías". Este año se celebró en la sede de la Real Academia de Ingeniería. Abrió el acto el Presidente de la RAI, Excmo. Sr. D. Elías Fereres Castiel, y la presentación corrió a cargo de la Excm. Sra. Dña. María Vallet Regí, Académica de Número de las Reales Academias de Ingeniería y Nacional de Farmacia. Intervinieron como ponentes: La Excm. Sra. Dña. María Vallet Regí: "Nanosistemas inteligentes para liberación de fármacos"; el Excmo. Sr. D. Antonio Hernando Grande, Académico de Número Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales: "Magnetismo en la Nanoescala"; el Excmo. Sr. D. Juan Tamargo Menéndez, Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia y de la de Medicina: "Nanotecnología en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades cardiovasculares"; y la Excm. Sra. Dña. María José Alonso Fernández, Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia: "Aplicación de la Nanotecnología farmacéutica al desarrollo de nuevos medicamentos".

El 30 de noviembre tuvo lugar la Sesión Científica Conmemorativa de los Premios Nobel 2017 en Fisiología o Medicina y en Química. La presentación y coordinación estuvieron a cargo del Excmo. Sr. D. Juan Ramón Lacadena Calero, Académico de Número de la RANF. Sus presentaciones llevaron por título "El Premio Nobel 2017 en Fisiología o Medicina. Genética y reloj biológico" y "El Premio Nobel 2017 en Química. Regla de oro de la investigación biológica: la pregunta, el material biológico, la técnica"; y en la que intervinieron el Excmo. Sr. D. Albino García Sacristán, Académico de Número de la RANF hablando del Premio Nobel 2017 en Fisiología o Medicina: "Ritmos circadianos: importancia del ciclo luz-oscuridad en reproducción"; y el Dr. José María Valpuesta Moralejo, Departamento de Estructura de Macromoléculas, Centro Nacional de Biotecnología, tratando sobre el Premio Nobel 2017 en Química: "Criomicroscopía electrónica: de la biología descriptiva a la biología estructural".

El 7 de diciembre, la Real Academia Nacional de Farmacia y la Fundación José Casares Gil de Amigos de la RANF

ofrecieron la Mesa Redonda titulada: “RNA y oportunidades terapéuticas”, presentada por el Académico de Número, el Excmo. Sr. D. José Miguel Ortiz Melón, y contó con las siguientes ponencias: Excmo. Sr. D. José Miguel Ortiz Melón, Prof. Emérito de la Universidad de Cantabria, Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia: “DNA basura y el proyecto ENCODE”. Se conoce desde hace décadas que solo una pequeña fracción del genoma humano contiene secuencias que codifican proteínas. La mayor parte del genoma humano no parece tener una función en fisiología o desarrollo a nivel de organismo y se conoce generalmente como DNA “basura”. El principal esfuerzo colectivo reciente para identificar regiones funcionales en el genoma humano ha sido el proyecto ENCODE. Los resultados de la primera fase del proyecto publicados en 2012 han generado un debate científico al afirmar que el 80 % del Genoma humano tiene una función bioquímica. Los resultados del proyecto ENCODE constituyen una base de datos de gran valor. Algunos de los llamados RNA largos no codificante (lncRNA) tienen funciones celulares en cáncer, desarrollo, impronta genética etc lo que les convierte en dianas celulares de interés terapéutico. Otro tipo de RNA no codificante, los micro-RNAs (mi-RNA) constituyen un nuevo recurso terapéutico. Junto al interés despertado por algunos tipos de RNA no codificante, la mayor parte de los transcritos producidos a partir del llamado DNA intergénico son poco abundantes, y están en niveles muy bajos de número de copias por célula. La implicación bioquímica del elevado grado de transcripción en el genoma humano (62%) sugiere que la transcripción por RNA polimerasas se inicia de manera preferente por unión a secuencias promotoras específicas, pero que también puede tener lugar, con menos probabilidad, casi en cualquier lugar accesible del genoma.

Le siguió en la exposición el Ilmo. Sr. D. Javier León Serrano, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular y Vicerrector de la Universidad de Cantabria, Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia: “La transcripción de genes como diana terapéutica dirigida”. Los factores de transcripción son los mediadores últimos de la respuesta a la mayoría de citoquinas, hormonas, y fármacos que modifican la actividad de rutas de señalización, que suelen acabar activando o inhibiendo factores de transcripción. Estos a su vez modifican la expresión de genes cuya resultante es una determinada respuesta biológica. Estudios genómicos los cifran en más de 3000 los genes codificantes de factores de transcripción en animales superiores, de los cuales al menos 1200 han sido identificados y estudiados en mayor o menor medida. Entre los factores de transcripción que son diana terapéutica estarían los llamados receptores nucleares, factores de transcripción que su vez son receptores de hormonas de tipo esteroideo o bien ácido retinoico, y que son activados al unirse a su hormona. Junto con los anteriores existe una multitud de factores de transcripción en los organismos superiores. Algunos de ellos codifican para oncoproteínas y proteínas oncosupresoras. Entre ellos están algunos de los más populares oncogenes en cáncer humano: MYC (desregulado en la mitad de tumores) o p53 (en un 30 % aproximadamente). Además, algunos de estos factores de transcripción se encuentran activados en una proporción muy alta (más del 70 % y en algún caso el 100 %) en tumores concretos. Este es el caso de MYC, PML-RAR α , BCL6, WT1, RB, p53, RB, etc. Sin embargo, con excepción del caso del receptor nuclear PML-RAR α , no existen fármacos usados en clínica dirigidos contra ninguna de estas oncoproteínas tan prevalentes. Esto contrasta con los fármacos disponibles que funcionan como inactivadores de enzimas y receptores de membrana. Una de las razones es la dificultad de valorar de forma masiva su actividad, es decir, la transcripción génica. Sin embargo en los últimos años, al menos en el caso del MYC, se han introducido fármacos experimentales así como abordajes de síntesis letal muy prometedores.

Continuó la exposición del ponente Ilmo. Sr. D. José Carlos Rodríguez Rey, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Cantabria, Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia: “RNAs de interferencia ¿los medicamentos del futuro?”. El descubrimiento de los mecanismos de silenciamiento por RNAs ha puesto de manifiesto la importancia de los RNAs no codificantes y su papel en la regulación de la expresión génica. Dos tipos de RNAs no codificantes, siRNAs y miRNAs son los que han concitado el mayor interés desde el punto de vista tecnológico. Se trata de RNAs pequeños de doble cadena con un gran potencial terapéutico como demuestra el elevado número, literalmente miles, de patentes solicitadas para el tratamiento de prácticamente todo tipo de enfermedades. Los miRNAs actúan de forma endocrina y para ello se transportan desde sus tejidos de síntesis hasta los tejidos diana. Son por lo tanto fáciles de aislar de muestras de sangre y otros fluidos biológicos. Esto ha servido para identificar patrones que están relacionados con determinadas patologías y la utilización de miRNAs para el diagnóstico temprano o el seguimiento de la evolución de diversas enfermedades es una de sus aplicaciones más prometedoras. Por su gran especificidad los siRNA son especialmente útiles para el desarrollo de terapias basadas en el silenciamiento de un solo gen. Pueden utilizarse así para dianas que no son fácilmente accesibles a las estrategias clásicas como es el caso de proteínas sin función enzimática conocida o con conformaciones inaccesibles a los medicamentos clásicos. En la actualidad la síntesis de variantes más estables de las moléculas y el desarrollo de diferentes tipos de vehículos para hacer llegar los RNAs a los tejidos dianas constituyen una de las áreas de investigación farmacéutica más activas. Es previsible que en pocos años los procedimientos basados en estos tipos de RNA estén completamente incorporados a la práctica clínica.

El 11 de diciembre, la Real Academia Nacional de Farmacia con la colaboración de los Laboratorio MSD celebró la Jornada titulada: “Antimicrobial Stewardship”. Importancia del uso adecuado de los antimicrobianos en el sistema sanitario”. Inauguró y presentó el acto el Excmo. Sr. D. Mariano Esteban Rodríguez, Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia y del Instituto de España; la Dra. Regina Revilla, Directora Ejecutiva Política y comunicación. MSD España; y el

Dr. Honorio Bando, Profesor Honorario de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y Académico de la Real Academia Nacional De Farmacia. La presentación del “Programa AMS-PROA Excelencia”, corrió a cargo de Dña. Pilar Muñoz, Directora de formación y proyectos Fundación UNED; el Primer Debate: "Problemática resistencias antimicrobianas en el entorno hospitalario", fue moderado por Dña. Natividad Calvente, Directora Asociada Relaciones Institucionales-MSD España y participaron los Dres. José Miguel Cisneros, Presidente SEIMC y Miguel Ángel Calleja, Presidente SEFH. El Segundo debate: "Problemática resistencias antimicrobianas en atención primaria" fue moderador por Dña. Carolina Arroyo, Key Account Management, Scientific Societies MSD España y en el participaron los Dres. José María Molero García, Miembro GdT Enfermedades Infecciosas, semFYC y Ana Molinero Crespo, Vicepresidenta SEFAC.

El 14 de diciembre tuvo lugar la Mesa Redonda con el título: “Aportación de los hongos a la salud”, coordinada por el Académico D. Bartolomé Ribas Ozonas, en la que disertó sobre “Los hongos medicinales como medicamentos”. Quien inició sus palabras comentando que la Mesa Redonda estaba sufragada por el Laboratorio Hifas da Terra, de Pontevedra, y era la sucesión de las habidas con laboratorios Esteve, y Almirall, de Barcelona, y CINFA de Pamplona, y que se alegraba que en todo lo ancho de la geografía de España, se concibieran iniciativas creadoras y procesos de elaboración de medicamentos, uno de los objetivos promocionales de esta Real Academia Nacional de Farmacia. El Académico Ribas Ozonas señaló que el objetivo de la mesa redonda consistía en aportar datos basados en la evidencia científica y clínica sobre la “Micoterapia”, término acuñado por el Laboratorio Hifas da Terra de Pontevedra, fundado por Dña. Catalina Fernández de Ana Portela. Laboratorio dedicado a la extracción envasa dado y venta de principios activos de los hongos medicinales, como especialidades farmacéuticas ya a nivel mundial. Y con el onjetio del tratamiento y curación de entidades nosológicas de fisiopatología conocida. Actualmenete estos medicamentos de especies vegetales criptógamas, concretamente hongos, están invadiendo el mercado en Oficinas de Farmacia, por prescripción facultativa de un amplio sector “in crescendo” de médicos, y también en Hospitales. Justificado también, no solo por sus resultados, sino por la “medicina oriental” que los aplica desde milenios atrás para el tratamiento del cáncer y otras patologías. En Europa y EE.UU. se practica por prescripción facultativa, bien como agentes únicos o combinados con radioterapia o quimioterapia. En consecuencia la micoterapia es un ámbito ya conocido en la Medicina clínica y terapéutica, para el tratamiento de determinadas enfermedades de la Sociedad española y universal. Y en nuestro país, a través de sus 22.000 Farmacias, y visitas a tener en cuenta de unos 20 millones de españoles. Por todo ello, y como misión de las Reales Academias, se debe informar y por lo tanto formar a los farmacéuticos y sanitarios, en contacto con ellos, para aconsejar en beneficio de la sociedad española y de la humanidad. Numerosas especies de hongos medicinales son aplicadas en los países orientales, y nuestro académico de Japón Tadashi Goino, recientemente fallecido, los utilizaba, en su “método Goino” de tratamiento del cáncer. Seguidamente dio la palara a los ponentes señalando que en los medicamentos de composición química fúngica están implicadas numerosas especies con actividad farmacológica, como explicará seguidamente la Dra. Dña. Asunción Peiré Garía. Y como nos expondrá el Prof. Pere Gascón los ensayos clínicos en pacientes con cáncer han demostrado que los compuestos del “*Ganoderma lucidum*” son bien tolerados por los pacientes. Otras propiedade están bien estudiadas en la literatira universal (Hsu 2011, Di Santo 2010, Brown 2012, Fungal Research Trust 2011). (Tani 2012).

A continuación intervino la segunda ponente, la Dra. Dña. María Asunción Peiré García, con el título: “Aspectos farmacológicos de los hongos medicinales”, en cuya amplia y documentada exposición, nos documentó sobre los principios activos contenidos en las diversas especies fúngicas y que poseen propiedades nutricionales y terapéuticas, conocidas desde la Antigüedad. Contó que recientemente, en Occidente, estamos asistiendo a un resurgimiento de las terapias empleadas en la medicina tradicional china como terapias complementarias o integrativas de diversos procesos patológicos. La Dra. Asunción Peiré expuso las numerosas estructuras químicas de los compuestos tales como beta glucanos, triterpenoides, flavonoides, que tienen actividad farmacológica, a los que añadió y se extendió con las vitaminas, antioxidantes, fibra alimentaria, aminoácidos esenciales y numerosos iones minerales (Se, Mg, Co, Ni, Zn, Fe y Cu) entre otros, con conocida actividad bioquímica tanto por separado como de forma sinérgica entre sí. Precisamente las sinergias observadas entre los distintos principios activos es lo que justifica el empleo terapéutico de los hongos en su forma de extracto total del mismo o especie vegetal. En su exposición comentó los mecanismos de acción de diversos componentes, haciendo especial mención de la farmacología de los Beta-glucanos y Triterpenoides, así como de las sinergias observadas entre los distintos componentes. También expuso ejemplos clínicos derivados de las aplicaciones en Oncología (efectos apoptóticos, antimitóticos, antiangiogénicos); de enfermedades neurológicas degenerativas (debido a la estimulación del factor de crecimiento neuronal (FCN); de enfermedades autoinmunes e inflamatorias (debido a las propiedades inmunomoduladoras o adaptógeno-sanitario); patología cardiovascular, enfermedades del sistema endocrino, y hacemos especial mención de ciertas patologías pediátricas. En resumen, nos expuso:

- a).- el empleo de los hongos terapéuticos: justificación, seguridad, biodisponibilidad
- b).- Inmunomodulación: efectos directos, explicación de Beta glucanos y Triterpenos
- c).- Principales hongos descritos en clinica: breve descripción de propiedades terapéuticas de Reishi, Shiitake, Maitake, *Ericium erinaceus*, *Agaricus blazei*, *Coprinus comatus*, *Cordiceps sinensis*, *Polyporus umbellatus*, *Coriolus versicolor*. d).- Requisitos de los hongos medicinales: origen, extracción hidroalcohólica, dosis.

Como tercer ponente actuó el Prof. Pere Gascón, Profesor de la Facultad de Medicina de e la Universidad Central de

Barcelona y de la Real Academia de Medicina de Cataluña, de brillante trayectoria en las Universidades de Nueva York y Rutgers, y en la Harvard Medical School y National Institutes of Health, y fichado últimamente por su Universidad de procedencia, la de Barcelona. Su disertación tuvo por título: “Micoterapia en Oncología”. Inició su exposición señalando que los hongos llevan más de 420 millones de años en el planeta Tierra, y que durante todo este tiempo su ambiente ha experimentado convulsiones climáticas. Y que por su propia condición de inmovilidad, los hongos, incluido los medicinales, han sufrido ataques de insectos, parásitos y animales de todo tipo. Precisamente su capacidad de resistencia, ha conferido a los hongos, una serie de propiedades terapéuticas para el ser humano que se explican con buenos resultados en el tratamiento de la fisiopatología de diversas enfermedades, y entidades nosológicas, que sufren los seres humanos. Se conocen desde hace mucho tiempo los efectos beneficiosos de ciertas plantas y hongos tanto para la salud como para el tratamiento de diversas patologías humanas. En el caso concreto del cáncer, se conocían sus propiedades desde la cultura milenaria china hasta nuestros días.

El National Cancer Institute (NCI) ya en los años 70 había identificado propiedades anticancerosas a varios extractos de hongos. Entre ellos el *Ganoderma Lucidum* (Reishi), el *Corioulus Versicolor*, la *Lentinula edodes* (Shiitake) y la *Grifola frondosa* (Maitake). Y señaló que, en la actualidad conocemos sus principios activos y en su gran mayoría los mecanismos de acción. Se consideran por lo general inmuno-moduladores por sus efectos sobre el sistema inmunológico en particular sobre los linfocitos y toda la cascada de citocinas que se liberan por su acción.

Se conocen también sus efectos a nivel del ciclo celular, a nivel de los telómeros y a nivel de la angiogénesis. También se refirió, a que, existen centenares de publicaciones científicas pre-clínicas y clínicas en inglés sobre las propiedades de diversos extractos de hongos en Oncología, aunque de autores de países orientales, principalmente de China y del Japón. Los resultados en oncología son de carácter beneficioso, no ya en la reducción de los efectos secundarios de la quimioterapia, sino también en la calidad de vida de los pacientes y en algún caso incluso sobre aumento de la supervivencia en aquellos casos en donde los extractos de hongos se habían añadido a la quimioterapia estándar.

Y terminó su exposición, señalando que el gran reto en el campo de la Micoterapia actual es la necesidad de poder realizar ensayos clínicos con una amplia muestra de pacientes, para poder convencer con sus resultados a los oncólogos más ortodoxos, para quienes un acúmulo de experiencia no es suficiente para aceptarlo como evidencia. La falta de patentabilidad de la mayoría de los extractos de hongos hace esta posibilidad en el día de hoy bastante remota al no poder atraer a las grandes compañías farmacéuticas para la realización de ensayos clínicos concluyentes por falta de incentivo.

Y el ponente del Laboratorio Hifas da Terra, de Pontevedra, Dr. Iván Simón Gómez, toma la palabra en nombre del Profesor Francisco Fernández de Ana-Magán, que por inesperada enfermedad estuvo impedido de participar. El Dr. Iván Simón es Director de Micosalud de Hifas da Terra, de Pontevedra, y su ponencia tuvo por título: “Los procedimientos de extracción de los hongos medicinales”. En su disertación expuso una evolución histórica sobre la creación y evolución del Laboratorio Hifas da Terra, la creación del término de “Micoterapia” por su fundadora, y señaló que la evolución de la aplicación de los hongos en medicina en Europa tiene una larga evolución. Además con una importante base científica y tecnológica, que la empresa ha aplicado y asumido en su creación y evolución, y que dirige Dña. Catalina Fernández de Ana Portela. Seguidamente planteó el “Reino Fungi” como un campo aun nuevo de investigación y desarrollo para la salud humana.

También dedicó unas pinceladas sobre el crecimiento y evolución de la empresa en sus 19 años de vida, con un claro exponente de la demanda de sus productos medicamentosos. Y presentó las tecnologías que se aplican en la preparación, envasado y distribución de sus medicamentos. Explicó los procesos y trabajos, que se llevan a cabo y dedicó una amplia revisión de los proyectos de investigación financiados, y otros que están en marcha en relación con los hongos medicinales, en beneficio de la sociedad española y de toda la humanidad.

Premios y distinciones.

En cuanto a los honores que han recibido nuestros Académicos, destacar que el pasado 31 de octubre durante la reunión ordinaria de la Junta Rectora del Instituto de España, fue nombrado nuestro Presidente D. Mariano Esteban Rodríguez nuevo Presidente del Instituto de España. Inicia su mandato en el turno anual rotatorio, en virtud de la regulación vigente del Instituto de España.

El Excmo. Sr. D. Benito del Castillo ha sido nombrado Doctor "honoris causa" por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima, decana de las Américas. Lima (Perú) el pasado 31 de octubre. Asimismo participó como conferenciante invitado para la apertura del Congreso de Ciencias Farmacéuticas de COIFFA, en sus bodas de plata (1992-2017). Riobamba (Ecuador) el día 30 de noviembre.

El Excmo. Sr. D. Francisco José Sánchez Muniz, invitado por el Área Académica de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo de México ha impartido un Curso “Síndrome Metabólico y Obesidad” en el marco del “2º Simposio sobre Investigación en Salud” que ha tenido lugar en Pachuca (Hidalgo, México) los días 20 y 21 de noviembre de 2017. En dicho Simposio participó como Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia de España, Catedrático de la Universidad Complutense y como Investigador responsable del “Grupo de Excelencia” de la Universidad Complutense: “Nutrición y Salud Cardiovascular”. Y ha compartido experiencias de Investigación en el Área de Salud con Profesores y alumnado de Pregrado y Postgrado de aquella Universidad.

El Profesor Sánchez Muniz, en la Clausura del Congreso recibió sendos diplomas y el reconocimiento por el Director del “Instituto de Ciencias de la Salud” y de la Jefa del Área Académica de Farmacia de dicha Universidad por su labor como ponente destacado en el Simposio y como Profesor del Curso de Doctorado.

El Académico Correspondiente, Ilmo. Sr. D. Enrique Castañeda, fue nombrado en noviembre, "Colegiado Distinguido "del Ilustre Colegio Oficial de Químicos de Madrid".

Al Prof. Dr. D. Daniel Pablo de la Cruz Sánchez Mata se le ha concedido la Medalla de Honor de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid.

Necrológica

En el capítulo de obituarios, lamentamos profundamente desde la Real Academia Nacional de Farmacia el fallecimiento el pasado 21 de noviembre de nuestro eminente y querido Académico de Número y Presidente del Honor, Excmo. Sr. D. Julio Rodríguez Villanueva.

También lamentamos el fallecimiento de nuestro Académico Correspondiente extranjero de Japón, querido y entrañable amigo D. Tadashi Goino, el pasado 29 de noviembre, como consecuencia de una hemorragia cerebral. La Junta de Gobierno del mes de diciembre decidió que la Sala de Exposición de grabados ukiyo-e se denominara “Sala Tadashi Goino” en agradecido y fraternal recuerdo. Siempre tendremos en el recuerdo a nuestro Académico de Japón, pues gracias a su generosa donación la RANF cuenta ahora con una importantísima colección de más de 500 estampas (grabados ukiyo-e, del final del periodo Edo entre 1750 a 1850) principalmente de la Escuela Kunisada.

Elección de Académico de Número

El pasado 21 de diciembre, la Junta General de la Real Academia Nacional de Farmacia eligió al Excmo. Sr. D. José Carlos Menéndez Ramos, como nuevo Académico de Número en la Medalla 15. Asimismo, se eligió nuevo Secretario de la RANF al Excmo. Sr. D. Jesús J. Pintor Just y Tesorero al Excmo. Sr. D. Antonio L. Doadrio Villarejo.

Bartolomé Ribas Ozonas
Académico Secretario RANF