



ANALES DE LA REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

VOLUMEN 92. NUMERO 2 (2026)
ABRIL - JUNIO
ACCESO ABIERTO



SUMARIO

ARTÍCULOS

DESCRIPTIVE STUDY OF THE MULTIDISCIPLINARY APPROACH TO THE SELECTION OF BIOLOGICAL AND TARGETED SYNTHETIC ANTIRHEUMATIC DRUGS

SANDRA ROTEA, LAURA GALINDO, NATIVIDAD OREIRO, JAVIER DE TORO Y FRANCISCO J. BLANCO

EFFECTO DEL CONSUMO DE FRUCTOSA EN EL METABOLISMO DE LA SERINA. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN UN MODELO MURINO SPRAGUE-DAWLEY

FERMÍN MARGALLO, MADELÍN PÉREZ, MARIBEL PANADERO, ELENA FAUSTE, PAOLA OTERO Y CARLOS BOCOS DE PRADA

QUIMIOMETRÍA E INTELIGENCIA ARTIFICIAL: ENCUENTROS EN LA PRIMERA FASE

AGUSTÍN GARCÍA ASUERO

EFFECTO DEL CONSUMO MATERNO DE FRUCTOSA EN LA METILACIÓN DE COMPONENTES CELULARES: FOSFOLÍPIDOS, GLICINA Y PROMOTORES DE GENES (EPIGENÉTICA)

ANA BERNAL; ELENA FAUSTE; MADELIN PÉREZ; CRISTINA DONIS; PAOLA OTERO; MARÍA ISABEL PANADERO Y CARLOS BOCOS DE PRADA

LECCIONES APRENDIDAS DURANTE LA PANDEMIA DE SARS-COV-2 Y PREPARACIÓN DE NUEVAS VACUNAS FRENTE A AMENAZAS

MARIANO ESTEBAN Y JORGE ESTEBAN-JIMÉNEZ

REPARACIÓN DEL ADN Y FARMACORRESISTENCIA EN CÁNCER DE PULMÓN DNA REPAIR AND DRUG RESISTANCE IN LUNG CANCER

PEDRO MEDINA VICO

Revista editada por:

REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA ESPAÑA
Calle de la Farmacia, 9-11 (Madrid)
Teléfonos: 91 531 65 51
I.S.S.N 1697-428X
I.S.S.N-L 1697-4271
DOI:https://doi.org/10.53519/analesranf.



Esta publicación está subvencionada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Comité Editorial

Presidente

Doadrio Villarejo, Antonio L.
Universidad Complutense de Madrid.

Directora Ejecutiva

Salaices Sánchez, Mercedes.
Universidad Autónoma de Madrid.

Editor Científico

Menéndez Ramos, José Carlos
Universidad Complutense de Madrid.

Editor Adjunto

Manuel Tirado Juárez
RANF

Consejo Editorial

Avenidaño López, Carmen.
RANF
Ribas Ozonas, Bartolomé.
RANF
Villar del Fresno, Ángel María.
RANF
Lacadena Calero, Juan Ramón.
RANF
González Bueno, Antonio I.
UCM
Salinas Sánchez, Antonio J.
UCM
Cuéllar Rodríguez, Santiago
RANF

Consejo Asesor

Abelló Gallo, Juan. Alcaliber
Adolfo Pérez Miravete. Inst. Pol. Nac. (México)
Alonso Fernández, María José. USC
Arancibia Orrego, Aquiles. U. de Chile (Chile)
Badimon Maestro, Lina. U. Barcelona
Badimon, Juan José. Mount Sinai. School Medicine (USA)
Barcina Angulo, Yolanda. U. Navarra
Basante Pol, Rosa. UCM
Blasco Marhuenda, María. CNIO
Cabezas Fernández del Campo, J. Antonio. RANF
Cuervo, Ana María. Albert Einstein Institute (USA)
Sánchez Mata, Daniel P. UCM
del Castillo García, Benito. RANF
Domínguez-Gil Hurlé, Alfonso. RANF
Elguero Bertolini, José. RACEFyN
Esteban Rodríguez, Mariano. CNB-CSIC
Ganellín, Robin. Univ. Coll. London (UK)
García Asuero, Agustín. U. Sevilla
García Sacristán, Albino. UCM
García Sastre, Adolfo. Icahn - Mount Sinai (USA)
Girbes Juan, Tomás. U. Valladolid
Gómez-Serranillos Cuadrado, M^a Pilar. UCM
González Bueno, Antonio I. UCM
Imai, Kazuhiro. U. Musashino (JAPAN)
Izpisúa Belmonte, J.C. San Diego Institute of Science
Ley, Steven. U. Cambridge (UK)
Marcos Sánchez, Ascensión. ICTAN-CSIC
Martínez Fernández, Antonio Ramón. RANF
Martínez Hernández, José Alfredo. IMDEA
Martínez Lanao, José. U. Salamanca
Martínez, Jean. U. Montpellier (France)
Medina Jiménez, José M^a. RANF
Molina Martín, María. UCM
Moro Sánchez, M^a Ángeles. CNIC
Ortega Ortiz de Apodaca, Fidel. U. de Alcalá
Ortiz Melón, José Miguel. U. Cantabria
Pace, Vittorio. U. Torino (Italy)
Pedraz Muñoz, José Luis. U. País Vasco
Portha, Bernard. Paris Diderot Univ. (France)
Puerto Sarmiento, Javier. RANF - RAH
Ribeiro, J. Alexandre. U. de Lisboa (PT)
Rodríguez Artalejo, Antonio. UCM
Simmonsén, Ulf. U. Aarhus (Denmark)
Tamargo Menéndez, Juan. UCM
Vallet Regí, María. UCM
Zimmermann, Herbert. U. Frankfurt (Germany)

ÍNDICE

Descriptive study of the multidisciplinary approach to the selection of biological and targeted synthetic antirheumatic drugs	117
Sandra Rotea, Laura Galindo, Natividad Oreiro, Javier De Toro y Francisco J. Blanco	
Efecto del consumo de fructosa en el metabolismo de la serina. Estudio experimental en un modelo murino sprague-dawley	127
Fermín Margallo, Madelín Pérez, Maribel Panadero, Elena Fauste, Paola Otero y Carlos Bocos de Prada	
Quimiometría e Inteligencia Artificial: Encuentros en la primera fase	159
Agustín García Asuero	
Efecto del consumo materno de fructosa en la metilación de componentes celulares: fosfolípidos, glicina y promotores de genes (epigenética)	183
Ana Bernal; Elena Fauste; Madelin Pérez; Cristina Donis; Paola Otero; María Isabel Panadero y Carlos Bocos de Prada	
Lecciones aprendidas durante la pandemia de SARS-COV-2 y preparación de nuevas vacunas frente a amenazas.....	211
Mariano Esteban Y Jorge Esteban-Jiménez	
Reparación del ADN y farmacorresistencia en cáncer de pulmón	227
Pedro Medina Vico	



CASO CLÍNICO

Descriptive study of the multidisciplinary approach to the selection of biological and targeted synthetic antirheumatic drugs**Estudio descriptivo del enfoque multidisciplinar de la selección de fármacos antirreumáticos biológicos y sintéticos dirigidos**

Sandra Rotea-Salvo¹, Laura Galindo-Domínguez², Natividad Oreiro-Villar², Javier De Toro², Francisco J. Blanco^{2,3}

¹Research Group of Hospital Pharmacy. Institute of Biomedical Research A Coruña (INIBIC), A Coruña University (UDC). A Coruña, Spain.

²Grupo de Investigación de Reumatología. Institute of Biomedical Research A Coruña (INIBIC), Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, A Coruña, Spain.

³Grupo de Investigación de Reumatología y Salud. Institute of Biomedical Research A Coruña (INIBIC). Departamento de Fisioterapia, Medicina y Ciencias Biomédicas. Centro Interdisciplinar de Química y Biología. A Coruña University (UDC). A Coruña, Spain. Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña, 15006 A Coruña, Spain. Phone: #34981176399. ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9821-7635>

e-mail: fblagar@sergas.es

Recibido el 28 de enero de 2026; aceptado el 4 de febrero 2026

Disponible en internet el 30 de junio de 2026

KEYWORDS

Rheumatology
Biological therapy
Janus kinase inhibitors
Treatment outcome
Multidisciplinary health team

ABSTRACT

Background and objectives: The Rheumatology Service of a tertiary hospital in Spain conducts weekly multidisciplinary meetings to determine the most appropriate disease-modifying antirheumatic drug (biological or targeted synthetic) for each patient. This study aimed to describe our experience with these sessions, assess the level of agreement in treatment decisions, and analyze treatment response at 3 and 6 months.

Methods: We performed a retrospective descriptive study including all patients discussed in the weekly sessions between September 2023 and March 2024. Baseline demographic and clinical characteristics, relevant dates, concordance between the proposed and initiated treatment, treatment continuation, and response to therapy at 3 and 6 months (assessed by clinical judgment and scale criteria) were recorded. Descriptive statistical analysis was conducted.

Results: A total of 128 patients (73% women) were discussed in the sessions during the study period. Concordance between the treatment selected in the sessions and the treatment actually initiated was high (92%). Of the 116 patients who started therapy with a biological or targeted synthetic disease-modifying antirheumatic drug, 97 (84%) and 88 (76%) continued the same therapy at 3 and 6 months, respectively. Reasons for discontinuation included inefficacy (n=14), safety concerns (n=8), and other reasons (n=6).

DOI:<https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto



At 6 months, 66% of patients showed a positive response according to clinical judgment, while 16% did not. According to standardized scale criteria, 46% of patients responded positively, and 20% did not.

Conclusions: This real-world study reflects our experience in treatment selection, demonstrating a high level of agreement in therapeutic decisions. However, response rates differed when assessed by clinical judgment versus scale criteria.

PALABRAS CLAVE

Reumatología
Terapia biológica
Inhibidores de la
janus cinasa
Resultado del
tratamiento
Grupo de salud
interdisciplinario

RESUMEN

Antecedentes y objetivos: El Servicio de Reumatología de un hospital terciario en España realiza reuniones multidisciplinares semanales para determinar el fármaco antirreumático modificador de la enfermedad más adecuado (biológico o sintético dirigido) para cada paciente. El objetivo de este estudio fue describir nuestra experiencia con estas sesiones, evaluar el nivel de acuerdo en las decisiones terapéuticas y analizar la respuesta al tratamiento a los 3 y 6 meses.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio descriptivo retrospectivo que incluyó a todos los pacientes discutidos en las sesiones semanales entre septiembre de 2023 y marzo de 2024. Se registraron las características demográficas y clínicas basales, fechas relevantes, concordancia entre el tratamiento seleccionado en la sesión y el finalmente iniciado, continuidad del tratamiento y respuesta a la terapia a los 3 y 6 meses (evaluada mediante juicio clínico y criterios estandarizados). Se realizaron análisis estadísticos descriptivos.

Resultados: Durante el período estudiado se discutieron en las sesiones un total de 128 pacientes (73% mujeres). La concordancia entre el tratamiento seleccionado en las sesiones y el tratamiento realmente iniciado fue alta (92%). De los 116 pacientes que comenzaron terapia con un fármaco antirreumático modificador de la enfermedad biológico o sintético dirigido, 97 (84%) y 88 (76%) continuaron con la misma terapia a los 3 y 6 meses, respectivamente. Las razones de suspensión incluyeron ineficacia (n=14), problemas de seguridad (n=8) y otros motivos (n=6). A los 6 meses, el 66% de los pacientes mostró una respuesta positiva según el juicio clínico, mientras que el 16% no respondió. Según criterios estandarizados, el 46% de los pacientes respondió positivamente y el 20% no lo hizo.

Conclusiones: Este estudio realizado en condiciones de práctica clínica real refleja nuestra experiencia en la selección de tratamientos, mostrando un alto nivel de concordancia en las decisiones terapéuticas. No obstante, las tasas de respuesta difirieron cuando se evaluaron mediante juicio clínico frente a criterios estandarizados.

1. INTRODUCTION

EULAR provides extensive and continually updated recommendations for the management of various rheumatological diseases (1). These guidelines generally recommend initiating treatment with a biologic disease-modifying antirheumatic drug (bDMARD) or a targeted synthetic disease-modifying antirheumatic drug (tsDMARD) when the desired target is not achieved with prior therapies. However, they do not specify which drug should be chosen as the initial option. Drug selection is based on a trial-and-error approach, considering patient characteristics, drug availability, established cost-efficiency protocols, and the experience of the treatment center. The Rheumatology Service (RS) at a tertiary hospital in northwest Spain conducts weekly multidisciplinary meetings to determine the most appropriate bDMARD or tsDMARD for each patient. These sessions are attended by the entire RS team, including physicians, nurses, clinical researchers, and the pharmacist responsible for the rheumatology area. Additionally, special-

ists from other fields, such as gastroenterology, dermatology, and pulmonology, are invited as needed. Before each session, patient data is sent by email for review.

During each meeting, the physician responsible for a given patient presents the case, detailing the medical history, comorbidities, previous treatments, current disease status, and the proposed treatment. This presentation is followed by a group discussion, leading to a consensus on the clinical approach or therapeutic management strategy.

Each rheumatologist maintains a general clinical consultation with their patients. When a patient is identified as a candidate for initiating bDMARD or tsDMARD therapy, or for switching treatments due to inadequate response or safety concerns, the case is presented during these weekly sessions. Patients considered eligible for treatment are followed in dedicated clinical consultations at 3 and 6 months after therapy initiation. If their condition remains stable during this period, they are returned to routine consultations with their treating rheumatologist (see Figure 1).

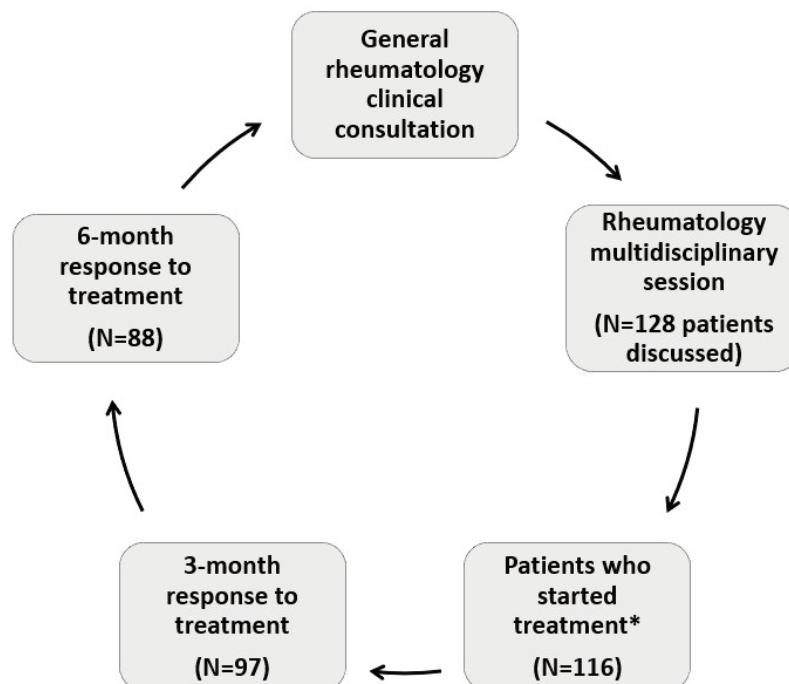


Figure 1. Patient flow across different rheumatology healthcare consultations, summarizing the study findings. *Treatment refers to a biological or targeted synthetic disease-modifying antirheumatic drug.



This descriptive study aims to present our experience with these sessions, evaluate the concordance between the treatment selected in the session and that ultimately initiated, and assess the treatment efficacy at 3 and 6 months post-initiation in a real-world setting.

2. METHODS

This retrospective descriptive study included all patients discussed in these sessions between September 2023 and March 2024. Data collected from electronic medical records included baseline characteristics (sex, age), clinical features (diagnosis), session and treatment initiation dates, concordance between the proposed and initiated treatment, treatment continuation, and response at 3 and 6 months. The follow-up period spanned from September 2023 to October 2024, ensuring that all patients completed six months of treatment.

Treatment response was recorded as a dichotomous variable (yes/no) and assessed using two criteria: clinical judgment and specific scales tailored to each condition. Depending on data availability, the scales used included DAS28 or DAS28-CRP for rheumatoid arthritis (RA) and juvenile idiopathic arthritis (JIA), SLEDAI for systemic lupus erythematosus (SLE), ASDAS-CRP, DAS28, DAS28-CRP or BASDAI for spondyloarthritis (SpA), and psoriatic arthritis (PsA). For conditions such as giant cell arteritis (GCA), uveitis, Sjögren's syndrome (SS), vasculitis, Behçet's disease, IgG4-related disease, scleritis, and granulomatous disease, response was assessed solely by clinical judgment.

Qualitative variables were described as frequency (n) and percentage, while quantitative variables were presented as mean \pm standard deviation.

This study received approval from the Clinical Research Ethics Committee of Galicia and was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of Good Clinical Practices.

3. RESULTS

During the study period, 128 patients were discussed, of whom 94 were women (73%) and 34 were men (27%), with a mean age of 47.3 ± 15.5 years. The distribution of diseases in the cohort is presented in Table 1. The most prevalent were RA (n=37), SpA (n=35), and PsA (n=29). A single patient could be diagnosed with more than one condition.

Table 1: Prevalence of pathologies in the study cohort.

Pathology	Number of patients
Rheumatoid arthritis	37
Spondyloarthritis	35
Psoriatic arthritis	29
Uveitis	11
Systemic lupus erythematosus	7
Juvenile idiopathic arthritis	6
Scleritis	5
Sjögren's syndrome	4
Vasculitis	3
Ulcerative colitis	2
Granulomatous disease	2
Diffuse interstitial lung disease	2
Still's disease	1
Behçet's disease	1
IgG4-related disease	1
Giant cell arteritis	1

In 92% of cases (n=118), there was agreement between the therapeutic approach decided in the session and that ultimately implemented. Discrepancies occurred in 8% of cases (n=10), including three patients who started a different drug than proposed, two



who enrolled in a clinical trial, two who voluntarily declined treatment, and two in which treatment was not initiated. In one additional case, the patient continued with their existing treatment.

Of the 128 patients, 116 initiated treatments with a bDMARD (n=102) or tsDMARD (n=14). The treatments administered are detailed in Table 2. The average time from the session to treatment initiation was 24±16.2 days. In 14 patients, treatment was delayed by more than 40 days, mainly due to tuberculosis chemoprophylaxis, administration of live vaccines, or hospitalization.

Table 2: Distribution of treatments administered to study patients.

Drugs	Number of patients
Adalimumab	46
Upadacitinib	11
Rituximab	9
Tocilizumab	8
Etanercept	7
Bimekizumab	6
Belimumab	5
Certolizumab	4
Infliximab	4
Secukinumab	4
Anifrolumab	2
Guselkumab	2
Baricitinib	2
Infliximab	1
Anakinra	1
Abatacept	1
Golimumab	1
Ixekizumab	1
Filgotinib	1

Before reaching 3 months, 19 patients discontinued treatment due to inefficacy (n=9), safety (n=6), or other reasons (n=4). At 3 months, 97 of 116 patients (84%) continued with the same drug. Before reaching 6

months, an additionally 9 patients discontinued treatment due to inefficacy (n=5), safety (n=2), or other reasons (n=2). At 6 months, 88 of 116 patients (76%) remained on the same bDMARD or tsDMARD (see Figure 2).

Based on clinical criteria, 68% of patients showed a positive response to treatment at 3 months, and 15% did not respond. Similarly, 66% responded at 6 months, and 16% did not. However, using specific response scales, 46% of patients responded at 3 months, and 20% did not. Additionally, 12% did not have a particular scale recorded. Also at 6 months, 46% responded and 20% did not. No particular scale in 9%. Better response rates were observed among treatment-naïve patients (Table 3).

Given that RA, SpA, and PsA were the predominant conditions, a stratified analysis was performed for these patients (Table 4).

4. DISCUSSION

To our knowledge, this is the first real-world study describing the experience of a multidisciplinary team in selecting initial bDMARD or tsDMARD for rheumatologic conditions. We have not identified any studies that specifically examine this type of meeting within healthcare services for decision-making and task execution. In our study, we observed high concordance in therapeutic decisions and notably drug retention rates by the end of the study. However, the efficacy response varied depending on the evaluation criteria used.

Gukova et al. conducted a study in which they developed an interdisciplinary care pathway for early RA. It consisted of a four-phase approach to improve triage, diagnosis, and management. They concluded that an interdisciplinary approach is essential to deliver the highest quality care to these patients (2). In our study, 128 patients were discussed during the weekly sessions, with a 92% concordance rate between session decisions and implemented therapy.

Of the 116 patients who initiated therapy, 76% remained on the same drug at 6 months.

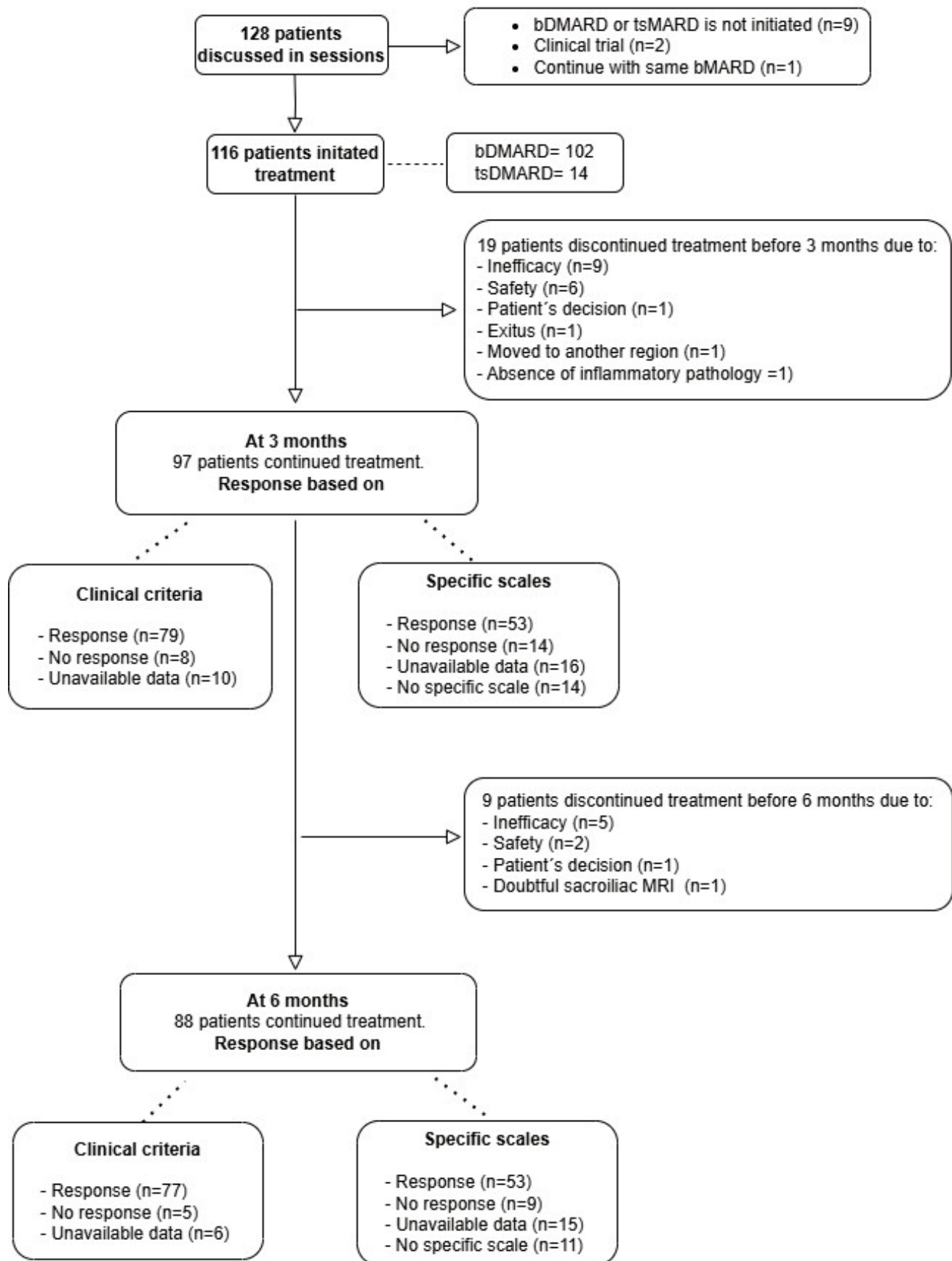


Figure 2: Flowchart of study patients during follow-up.



Table 3: Response to treatment according to clinical criteria or specific disease activity index in the total population who initiated treatment.

Response at	3 months			6 months		
Global assessment	TOTAL n=116*	Naive n=59*	Experienced n=56*	TOTAL n=116**	Naive n=59**	Experienced n=56**
Clinical response						
Response	79 (68%)	43 (73%)	35 (63%)	77 (66.5%)	42 (71%)	34 (61%)
No response***	17 (15%)	4 (7%)	13 (23%)	19 (16.5%)	7 (12%)	12 (21%)
Unavailable data	10 (9%)	7 (12%)	3 (5%)	6 (5%)	3 (5%)	3 (5%)
Scale response						
Response	53 (46%)	28 (48%)	25 (44%)	53 (46%)	26 (44%)	27 (48%)
No response***	23 (20%)	9 (15%)	14 (25%)	23 (20%)	11 (19%)	12 (21%)
Unavailable data	16 (14%)	10 (17%)	6 (11%)	15 (13%)	9 (15%)	6 (11%)
No specific scale	14 (12%)	7 (12%)	6 (11%)	11 (9%)	6 (10%)	4 (7%)

Note: there was no information about prior treatments for 1 patient.

*Before 3 months, 10 patients (8%) discontinued treatment due to safety concerns and other reasons, 5 naïve (8%) and 5 experienced patients (9%).

**Before 6 months, 14 patients (12%) discontinued treatment due to safety concerns and other reasons, 7 naïve (12%) and 7 experienced patients (13%).

***To calculate the total nonresponding patients, those who discontinued due to inefficacy before 3 and 6 months respectively, were included.

Previous studies reported comparable 6-month drug retention rates than those observed in our study, ranging from 75%-88% (3-6).

Comparing our data with previous studies is challenging due to the variability in how response is defined and measured. While some studies report remission rates, others focus on low disease activity (LDA) or use the EULAR response criteria. Our descriptive study assessed response rates (yes/no) based on clinical judgment and specific assessment scales. Furthermore, our cohort included a heterogeneous mix of rheumatic diseases and both treatment-naïve and experienced patients, reflecting the diverse clinical scenarios encountered in routine practice. The primary aim of this study was to describe our experience with shared decision-making in collaboration with patients and within the multidisciplinary team.

In the study by Ørnbjerg et al. involving patients with SpA treated with their first anti-TNF, the 6-month response rates were as follows: ASDAS Inactive disease/BASDAI<40 rates were 33%/72% (LUNDEX-adjusted: 27%/59%), and ASAS 20/40 response rates were 64%/49% (LUNDEX-adjusted 52%/40%) (6). Fewer response rates were reported in the study by Mease et al., where 20% and 14% of patients with ankylosing spondylitis initiating bDMARD achieved ASAS20 and ASAS40, respectively, at 6 months. Additionally, only 34% achieved an optimal treatment response (ASDAS, <2.1). Better responses were observed in treatment-naïve patients compared to experienced ones (7).

Brahe et al. examined PsA patients and found 6-month remission rates based on DAS28/DAPSA were 56%/27% (LUNDEX-adjusted: 45%/22%). The ACR20/50/70 response



Table 4. Response to treatment according to clinical criteria or specific disease activity index in the total population who initiated treatment, stratified by pathology.

Response at	3 months			6 months		
Pathology	RA	SpA	PsA	RA	SpA	PsA
Global assessment	n=34*	n=31*	n=25*	n=34**	n=31**	n=25**
Clinical response						
Response	24 (70%)	24 (78%)	17 (68%)	23 (68%)	23 (74%)	16 (64%)
No response***	4 (12%)	5 (16%)	4 (16%)	4 (12%)	5 (16%)	6 (24%)
Unavailable data	2 (6%)	1 (3%)	2 (8%)	1 (3%)	2 (7%)	0 (0%)
Scale response						
Response	15 (44%)	15 (48%)	17 (68%)	19 (56%)	16 (52%)	12 (48%)
No response***	6 (17%)	11 (36%)	4 (16%)	4 (12%)	9 (29%)	8 (32%)
Unavailable data	5 (15%)	4 (13%)	2 (8%)	3 (9%)	5 (16%)	2 (8%)
No specific scale	4 (12%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)

RA: Rheumatoid arthritis; SpA: Spondyloarthritis; PsA: Psoriatic arthritis.

*Before 3 months, 4 (12%) RA, 1 (3%) SpA, and 2 (8%) PsA patients discontinued treatment due to safety concerns and other reasons.

**Before 6 months, 6 (17%) RA, 1 (3%) SpA, and 3 (12%) PsA patients discontinued treatment due to safety concerns and other reasons.

***To calculate the total nonresponding patients, those who discontinued due to inefficacy before 3 and 6 months respectively, were included.

rates at 6 months were 53%, 38%, and 22%, respectively (4). In the study by Colombo et al. evaluating the effectiveness of biologics in PsA, 6-month response rates using EULAR DAS28 criteria were 71.8%, while ACR20/50/70 responses were 41.2%, 29.4%, and 17.1%, respectively (8).

For RA, Alten et al. reported that 6-month remission rates were 25.6% and 18.5% for patients treated with baricitinib and those treated with other tsDMARDs or bDMARDs, respectively. The corresponding proportions of patients achieving LDA were 36.8% and 37.3%, respectively (5). In the study by Santos et al., 46.4% of RA-experienced patients treated with a bDMARD achieved remission or LDA according to CDAl at 6 months; however, LUNDEX adjustments showed lower response rates (3). Ramirez et al. showed in their study that at 6 months 75.6% of RA patients treated with JAK

inhibitors achieved remission and LDA, while 63.6% of patients with SpA achieved remission/LDA, and 87.5% of patients with PsA achieved low activity (9).

As outlined above, response rates across studies vary depending on the underlying pathology and whether the patients were treatment-naïve or experienced with b/tsDMARDs. Notably, all studies assessed responses using validated indices or scales tailored to the specific condition.

In our study, the overall scale-based response rate at 6 months was 46%. When stratified by pathology, higher response rates were observed: 56% in RA, 52% in SpA, and 48% in PsA. Furthermore, response rates were higher when assessed using clinical response criteria. The overall clinical response rate was 66%, with similar rates observed in RA (68%) and PsA (64%), and a higher rate in SpA (74%).



A notable difference in our study emerges when comparing overall 6-month positive response rates based on clinical criteria (66%) versus specific assessment scales (46%). This disparity can be partly attributed to the absence of specific scales for certain pathologies, making scale-based assessments inapplicable in approximately 10% of cases, as well as the unavailability of data for 13% of the patients. Approximately half of the missing data regarding uncalculated scales or missed follow-up visits at 3 or 6 months pertain to patients from clinical trials or other healthcare areas. Another contributing factor could be that patients often rated their disease more negatively compared to their physicians did.

From our perspective, the clinician's evaluation holds greater significance than scale-based assessments alone, particularly when the latter are feasible but influenced by various factors. These include infectious processes, the patient's emotional state, and other conditions that affect acute-phase reactants. Additionally, mechanical pain or comorbidities such as fibromyalgia can further distort scale results (10). Clinicians take these complex factors into account when determining treatment response.

This study highlights some limitations and areas for improvement in our clinical practice. First, its purely descriptive nature precludes causal inference or comparisons between groups. Second, some data points were unavailable for response evaluation, either because visits were not conducted within the specified timeframe or the corresponding scales were not completed. This may also occur when patients do not attend follow-up appointments or fail to complete the necessary laboratory tests. Third, as this study relies on real-world data, it is evident that the clinical workload sometimes does not permit complete data collection. While the number of patients with missing data for response calculation is not high, there is always potential for improvement. Finally, the absence of the

DAPSA scale in evaluating treatment response for PsA represents another limitation. Although increasingly recommended in recent years, it was not part of our evaluation protocols at the time. Moving forward, we plan to incorporate the DAPSA scale into our assessments to enhance the precision of our evaluations.

5. CONCLUSIONS

These multidisciplinary meetings provide a framework for collaborative therapeutic decision-making and may support the selection of the most appropriate treatment for each patient. They also offer opportunities for communication among the various healthcare professionals involved. Although this study did not directly measure improvements in decision-making or communication, the descriptive results suggest that such meetings could be a valuable approach and potentially implementable in other hospitals. Our efficacy findings are consistent with the response rates described in the literature. Nonetheless, there is room for improvement in data collection and in-patient response rates. By sharing these real-world observations, we aim to inform the broader professional community and contribute to ongoing efforts to optimize the management of patients with rheumatic diseases.

Acknowledgement: We would like to thank the entire Rheumatology and Pharmacy departments for their collaboration, as well as all the patients for their invaluable support.

Funding: This study has been funded by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) through the projects PMP15/00032, and PMP22/00101 co-funded by the European Regional Development Fund 'A way to make Europe'; funded by ISCIII, co-funded by the European Union and project PI23/00818. SR-S was supported by ISCIII Programa Rio Hortega CM22/00210. LG is a PhD



student supported by Cátedra FSR-UDC, Universidad de A Coruña.

Conflict of interest: Dr. Francisco Blanco has received grants or contracts from speaker fees from Abbvie, Bristol Myers Squibb, Roche, Servier, Novartis, Horizon Therapeutics Ireland DAC, ITF RESEARCH PHARMA S.L.U., GSK Research, Pfizer, Sanofi-Aventis, Grunenthal, Lilly, Merck Healthcare, KgaA, LG Chem, Ltd, UCB, Janssen, Amgen, Regeeron, Alkem Laboratories Ltd, Grunenthal, Sun Pharma Global FZE, Kiniksa Pharmaceuticals, GmbH, speakers fees from Medicamenta-Ecuador, Grunenthal and Asofarma, support attending meetings from UCB, Abbie and Celgen. All of them unrelated to the study presented in this manuscript.

Declaration of Generative AI and AI-Assisted Technologies in the Writing Process: During the preparation of this work, the authors used ChatGPT and Grammarly to improve readability and language. After using these tools, the authors reviewed and edited the content as needed and took full responsibility for the content of the publication.

6. REFERENCES

1. EULAR [Internet]. [citado 28 de noviembre de 2024]. Recommendations Management. Disponible en: <https://www.eular.org/recommendations-management>
2. Gukova X, Hazlewood GS, Arbilla H et al. Development of an interdisciplinary early rheumatoid arthritis care pathway. *BMC Rheumatol.* 2022;6(1):35.
3. Santos-Faria D, Tavares-Costa J, Eusébio M, et al. Tocilizumab and rituximab have similar effectiveness and are both superior to a second tumour necrosis factor inhibitor in rheumatoid arthritis patients who discontinued a first TNF inhibitor. *Acta Reumatol Port.* 2019;44(2):103-13.
4. Brahe CH, Ørnberg LM, Jacobsson L, et al. Retention and response rates in 14 261 PsA patients starting TNF inhibitor treatment-results from 12 countries in EuroSpA. *Rheumatology (Oxford).* 2020;59(7):1640-50.
5. Alten R, Burmester GR, Matucci-Cerinic M, et al. The RA-BE-REAL Multinational, Prospective, Observational Study in Patients with Rheumatoid Arthritis Receiving Baricitinib, Targeted Synthetic, or Biologic Disease-Modifying Therapies: a 6-Month Interim Analysis. *Rheumatol Ther.* 2023;10(1):73-93.
6. Ørnberg LM, Brahe CH, Askling J, et al. Treatment response and drug retention rates in 24 195 biologic-naïve patients with axial spondyloarthritis initiating TNFi treatment: routine care data from 12 registries in the EuroSpA collaboration. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(11):1536-44.
7. Mease PJ, Blachley T, Malatestinic WN, et al. Effectiveness of bDMARDs in ankylosing spondylitis patients by biologic use: experience from the CorEvitas PsA/SpA Registry. *Curr Med Res Opin.* 2024;40(2):315-23.
8. Colombo D, Frassi M, Pagano Mariano G, et al. Real-world evidence of biologic treatments in psoriatic arthritis in Italy: results of the CHRONOS (Effectiveness of biologic treatments for psoriatic arthritis in Italy: an Observational Longitudinal Study of real-life clinical practice) observational longitudinal study. *BMC Rheumatol.* 2022;6:57.
9. Ramirez Huaranga MA, Calvo Pascual LA, Velasco Sanchez D, et al. Real-World Experience With Janus Kinase Inhibitors in Immune-Mediated Diseases: Clinical Experience of a University Hospital. *Cureus.* 2024;16(8):e67729.
10. Wolfe F, Michaud K, Busch RE, et al. Polysymptomatic distress in patients with rheumatoid arthritis: understanding disproportionate response and its spectrum. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2014;66(10):1465-71.

Si desea citar nuestro artículo:

Descriptive study of the multidisciplinary approach to the selection of biological and targeted synthetic antirheumatic drugs

Sandra Rotea-Salvo, Laura Galindo-Domínguez, Natividad Oreiro-Villar, Javier De Toro, Francisco J. Blanco

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 92. nº 2 (2026) · pp. 117-126
DOI:<http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.01.01>



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Efecto del consumo de fructosa en el metabolismo de la serina. Estudio experimental en un modelo murino sprague-dawley**Effect of fructose consumption on serine metabolism. Experimental study in a sprague-dawley murine model**

Fermín Margallo Remón, Madelín Pérez-Armas, Maribel Panadero Antón, Elena Fauste Alonso, Paola Otero Gómez, Carlos Bocos de Prada

Facultad de Farmacia. Universidad CEU San Pablo

e-mail: fmargalloremon@gmail.com

Trabajo ganador del premio ASISA 2025 en el Concurso Científico de la RANF

Recibido el 15 de septiembre 2025; aceptado el 12 de diciembre de 2026

Disponible en internet el 30 de junio de 2026

PALABRAS CLAVE

Fructosa
Síndrome
Metabólico
Programación fetal
Biosíntesis de serina
PHGDH
Metabolismo de un
carbono

RESUMEN

El consumo de fructosa ha aumentado considerablemente a nivel mundial en los últimos años, ya sea en forma de azúcar de mesa (sacarosa) o como jarabe de maíz rico en fructosa (HFCS). Dicho consumo, cuando se produce durante la gestación, se ha asociado con trastornos metabólicos que pueden programar la salud de la descendencia. Este trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto de la exposición materna a fructosa durante la gestación sobre la ruta de biosíntesis de serina, el metabolismo de un carbono y la expresión de transportadores placentarios implicados en el suministro de serina al feto. Para ello, se llevó a cabo un estudio experimental en ratas gestantes Sprague-Dawley (generación F0), divididas en un grupo control, otros dos grupos tratados con fructosa al 10 % (p/v) en el agua de bebida y glucosa al 10 % (p/v) respectivamente durante su gestación. También se analizó la descendencia hembra de las madres fructosa (generación F1) que se sometió a un tratamiento con fructosa durante su propia gestación y sus fetos (futura generación F2). Mediante qPCR, se midió la expresión de las principales enzimas de la biosíntesis de la serina (PHGDH, PSAT1, PSPH) su degradación a piruvato (SDS) y su interconversión en glicina (SHMT1 y SHMT2), además de algunas de las enzimas clave del metabolismo de un carbono (MTHFD2 y MTHFR) y los transportadores placentarios implicados en el transporte de serina hacia el feto. Para ello, se analizaron los hígados de madres (generación F0), los hígados y placentas de su descendencia (F1) e hígados de los fetos de la primera generación (que constituyen la futura generación F2).

Los resultados mostraron que el consumo de fructosa durante la gestación activa la enzima PHGDH (3-fosfoglicerato deshidrogenasa), enzima limitante de la biosíntesis de serina y reduce la expresión de la enzima SDS encargada de transformar la serina en piruvato, además de incrementar la conversión de serina

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto



en glicina, la cual conecta con el metabolismo de un carbono. Todo ello favorecería la generación de intermediarios para la síntesis de macromoléculas como los triglicéridos o bases nitrogenadas. Asimismo, se observó un efecto de programación fetal en la descendencia cuyas madres habían consumido fructosa en la gestación, evidenciado por la activación de las enzimas principales de la ruta de síntesis de serina y la del metabolismo de un carbono. Este efecto se mostró de forma más acusada cuando a las descendientes de madres fructosa se les sometió a una reexposición a fructosa durante su propia gestación.

Estos hallazgos aportan nuevas evidencias sobre el impacto intergeneracional del consumo de fructosa y su relación con el desarrollo del síndrome metabólico desde etapas tempranas.

ABSTRACT

Fructose consumption has increased considerably globally in recent years, either in the form of table sugar (sucrose) or as high-fructose corn syrup (HFCS). Such consumption, when it occurs during gestation, has been associated with metabolic disorders that can program the health of the offspring. This work aims to study the effect of maternal exposure to fructose during gestation on the serine biosynthesis pathway, one-carbon metabolism, and the expression of placental transporters involved in the supply of serine to the fetus. To this end, an experimental study was carried out in pregnant Sprague-Dawley rats (generation F0), divided into a control group, two other groups treated with 10% fructose (w/v) in drinking water and 10% glucose (w/v) respectively during their gestation. The female offspring of fructose mothers (F1 generation) who underwent fructose treatment during their own gestation and their fetuses (future F2 generation) were also analyzed. By qPCR, the expression of the main enzymes of serine biosynthesis (PHGDH, PSAT1, PSPH), their degradation to pyruvate (SDS) and their interconversion into glycine (SHMT1 and SHMT2) were measured, in addition to some of the key enzymes of one-carbon metabolism (MTHFD2 and MTHFR) and placental transporters involved in serine transport to the fetus. To do this, the livers of mothers (generation F0), the livers and placentas of their offspring (F1) and livers of the fetuses of the first generation (which constitute the future generation F2) were analyzed.

The results showed that fructose consumption during pregnancy activates the PHGDH (3-phosphoglycerate dehydrogenase) enzyme, an enzyme that limits serine biosynthesis and reduces the expression of the SDS enzyme responsible for transforming serine into pyruvate, in addition to increasing the conversion of serine into glycine, which is connected to the metabolism of one carbon. All this would favor the generation of intermediates for the synthesis of macromolecules such as triglycerides or nitrogenous bases. Likewise, a fetal programming effect was observed in offspring whose mothers had consumed fructose during pregnancy, evidenced by the activation of the main enzymes of the serine synthesis pathway and that of one-carbon metabolism. This effect was most pronounced when the offspring of fructose mothers were subjected to re-exposure to fructose during their own gestation.

These findings provide new evidence on the intergenerational impact of fructose consumption and its relationship with the development of metabolic syndrome from early stages.

KEYWORDS

Fructose
Metabolic syndrome
Fetal programming
Serine biosynthesis
PHGDH
One-Carbon metabolism

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La fructosa

La fructosa es un monosacárido de seis carbonos, clasificado estructuralmente como una cetohexosa, que se encuentra de forma natural en las frutas, la miel y ciertas verduras. Junto a la glucosa, ha sido comúnmente utilizada como fuente de azúcares añadidos, principalmente en bebidas azucaradas. En el contexto de la dieta occidental, también conocida como *Western diet*, su presencia se ha visto notablemente incrementada por el consumo de azúcar de mesa (sacarosa), un disacárido compuesto por glucosa y fructosa, y de jarabe de maíz rico en fructosa (HFCS, del inglés: *High-Fructose Corn syrup*). Dicho jarabe se obtiene por procesamiento industrial del almidón de maíz a través de una hidrólisis enzimática del almidón y posterior isomerización de parte de la glucosa obtenida a fructosa. Se comercializa en diferentes formatos que contienen proporciones variables de glucosa y fructosa, siendo el más comúnmente usado el HFCS-55, el cual contiene 55% de fructosa y 45% de glucosa en forma libre. Debido a su bajo coste, mayor solubilidad en agua y alto poder edulcorante, el HFCS ha sido ampliamente utilizado por la industria alimentaria en la elaboración de alimentos procesados (1).

En consecuencia, la ingesta de fructosa en la población en forma de HFCS ha experimentado un aumento acusado desde finales de los años 70 alcanzando un valor máximo a finales de los 90, comparado con otros tipos de azúcares (Figura 1) (2). Esta tendencia ha suscitado una creciente preocupación en la comunidad científica, ya que, múltiples trabajos de investigación han encontrado evidencias sólidas, tanto en estudios realizados en humanos como en animales de experimentación, que relacionan la ingesta de fructosa con el desarrollo de síndrome metabólico. El síndrome metabólico se ha convertido en uno de los principales problemas de salud pública en el siglo XXI y es un cuadro clínico que se diagnostica cuando un paciente presenta tres de las siguientes cinco alteraciones: hipertensión, obesidad abdominal, hiperglucemia en ayunas, hipertrigliceridemia y bajos niveles plasmáticos de colesterol en lipoproteínas de alta densidad (HDL). El síndrome metabólico aumenta el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) (3,4). Estas enfermedades están englobadas dentro de lo que se conoce como enfermedades no transmisibles (ENT), una de las principales causas de muerte a nivel global, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Aunque estas enfermedades tienen cierto com-

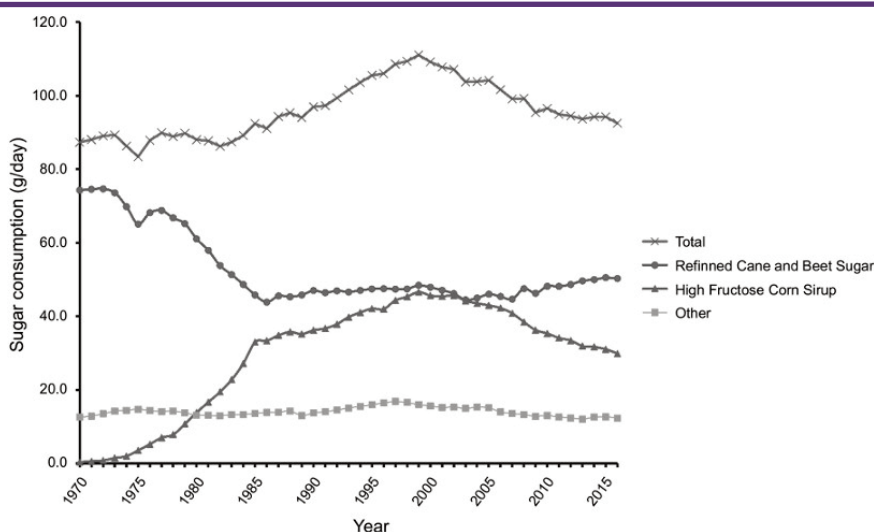


Figura 1. Evolución del consumo per cápita (g/día) de jarabe de maíz de alta fructosa en comparación con otros tipos de azúcares utilizados en la industria en EE. UU. desde 1970 a 2016 (2).



ponente genético, una dieta pobre en alimentos de origen vegetal y marcada por los patrones de dieta occidental son un nexo causal en el aumento en la incidencia de ENT crónicas (5).

Aunque la fructosa y la glucosa son isómeros estructurales, tienen idéntico peso molecular, fórmula química y aportan el mismo valor energético (4 kcal/g), ambas moléculas presentan diferencias significativas a nivel fisiológico y metabólico (Figura 2) (1). La fructosa tiene un poder edulcorante mayor que la glucosa, 1.7 frente a 0.75, y tiene un índice glucémico menor, 23 frente a 100, respectivamente. Además, tanto su absorción intestinal como su metabolismo hepático son completamente diferentes. A nivel intestinal, el transporte de glucosa es un proceso que requiere energía y está mediado por el cotransportador de sodio-glucosa 1 (SLGT1, del inglés: *sodium-glucose linked transporter*), mientras que la entrada de la fructosa en el enterocito se realiza a través de un transporte pasivo facilitado mediado por el transportador de glucosa GLUT5 (6). En lo que respecta a su metabolismo, la glucosa es metabolizada a través de la glucólisis por la mayoría de los tejidos del organismo y esta ruta está controlada, entre otros factores, por la insulina. En cambio, la fructosa se metaboliza predominantemente en el hígado, intestino y riñón en un proceso conocido como fructólisis. Sorprendentemente, el metabolismo de la fructosa no

estimula la secreción de insulina o leptina, dos de las hormonas más importantes que regulan el metabolismo energético y el apetito, siendo este uno de los factores clave en el desarrollo de síndrome metabólico (1).

1.2. Metabolismo y absorción de la fructosa

Tras su ingesta, la fructosa es absorbida en el enterocito mediante un sistema de transporte facilitado mediado por GLUT5. De aquí, pasa a la circulación sistémica a través del transportador GLUT2 (figura 3) (6). Estudios experimentales llevados a cabo en ratones evidencian cómo la completa eliminación del transportador GLUT5 produce una malabsorción de la fructosa, dando lugar a la producción de gases y otros trastornos intestinales. A pesar de que el transportador GLUT2 presenta menos afinidad por la fructosa ($K_m = 11 \text{ mM}$) que GLUT5 ($K_m = 6 \text{ mM}$), es probable que tenga mayor relevancia en su captación a nivel hepático, ya que GLUT5 apenas se expresa en dicho tejido (7). A diferencia de la glucosa, que se distribuye ampliamente por los tejidos periféricos bajo control de la insulina, la fructosa es captada casi en su totalidad por el hígado, donde se metaboliza el 70% de la fructosa de forma rápida y sin necesidad de respuesta de la insulina (1,5). La expresión del transportador GLUT5 está altamente regulada por la proteína de unión al elemento respuesta de carbohidratos (ChREBP, del inglés: *Carbohydrate Responsive-Element Binding Protein*),

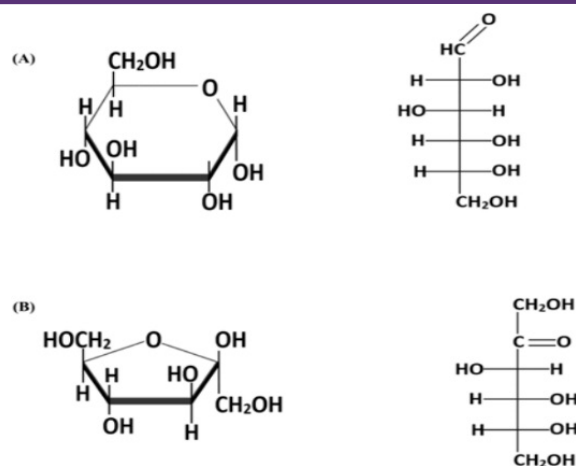


Figura 2. Estructuras de la glucosa (A) y la fructosa (B) (1)

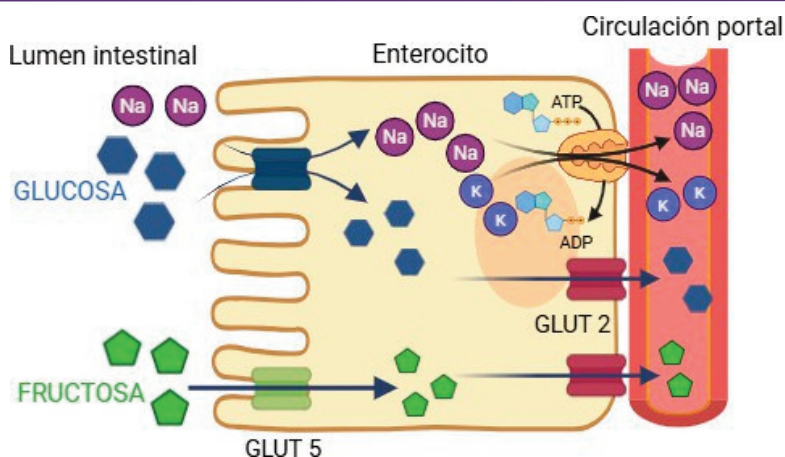


Figura 3. Transporte intestinal de glucosa y fructosa. Paso hacia el interior del enterocito a través de SGLT1 (sodium-glucose linked transporter 1) y GLUT5, respectivamente y su posterior paso al torrente sanguíneo a través de GLUT 2. Imagen realizada con Biorender (www.biorender.com).

que a su vez se activa por medio de metabolitos secundarios de la fructólisis. Además, ChREBP también induce la expresión de genes involucrados en la lipogénesis, favoreciendo la síntesis y acumulación de ácidos grasos en el hígado y en otros órganos como el páncreas o el intestino delgado (3,4). Por tanto, se ha comprobado que un mayor consumo de fructosa potenciará sus efectos perjudiciales en el organismo al inducir la expresión de GLUT5, lo que favorece su propia absorción intestinal.

Es a nivel hepático donde existen las principales diferencias entre ambos monosacáridos. La glucosa en el hígado entra en la glucólisis donde es fosforilada a Glucosa-6-fosfato por la enzima glucoquinasa, y posteriormente, la fosfofructoquinasa-1 la transforma en fructosa 1,6-bisfosfato (figura 4). Ambas reacciones están estrictamente reguladas, de tal manera que la glucoquinasa es activada por la insulina, mientras que la fosfofructoquinasa-1 presenta una retroalimentación negativa por producto (ATP y citrato). En cambio, en el hígado la fructosa es metabolizada a través de una ruta conocida como fructólisis (figura 4). A través de esta ruta, la fructosa es fosforilada a fructosa-1-fosfato por la enzima cetohecoquinasa (KHK), para posteriormente ser escindida en dos productos: la dihidroxiacetona fosfato y el gliceraldehído, a través de una reacción catalizada por la aldolasa B.

Finalmente ambos compuestos se pueden transformar en gliceraldehído 3-fosfato que se incorporan a la glucólisis, en una etapa posterior a las catalizadas por la glucoquinasa y la fosfofructoquinasa 1, saltándose así dos de los puntos claves de regulación de la glucólisis. A diferencia de estas dos enzimas claves, la KHK no presenta ningún mecanismo de control y, de hecho, su expresión y actividad está estimulada por la presencia de fructosa. Como resultado, el consumo excesivo de fructosa conduce a una producción descontrolada de triosas fosfato que conduce a una mayor formación de acetil coenzima A (CoA), y glicerol-3-fosfato, precursores esenciales para la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos (3).

Este proceso no está exento de consecuencias metabólicas. De esta manera, el gasto excesivo de adenosín trifosfato (ATP) para la fosforilación de la fructosa por la KHK conduce a una depleción de ATP y a un aumento de los niveles de adenosín difosfato (ADP). Este ADP es transformado en adenosín monofosfato (AMP) por la AMP desaminasa (AMPD) y, posteriormente, a ácido úrico por la vía de las purinas. La hiperuricemia resultante tiene graves consecuencias metabólicas, entre ellas, promueve el estrés oxidativo, disminuye la cantidad de óxido nítrico y provoca disfunción endotelial. Estas alteraciones están implicadas en el mecanismo patogénico de la hipertensión arterial y la lesión renal (3,5).

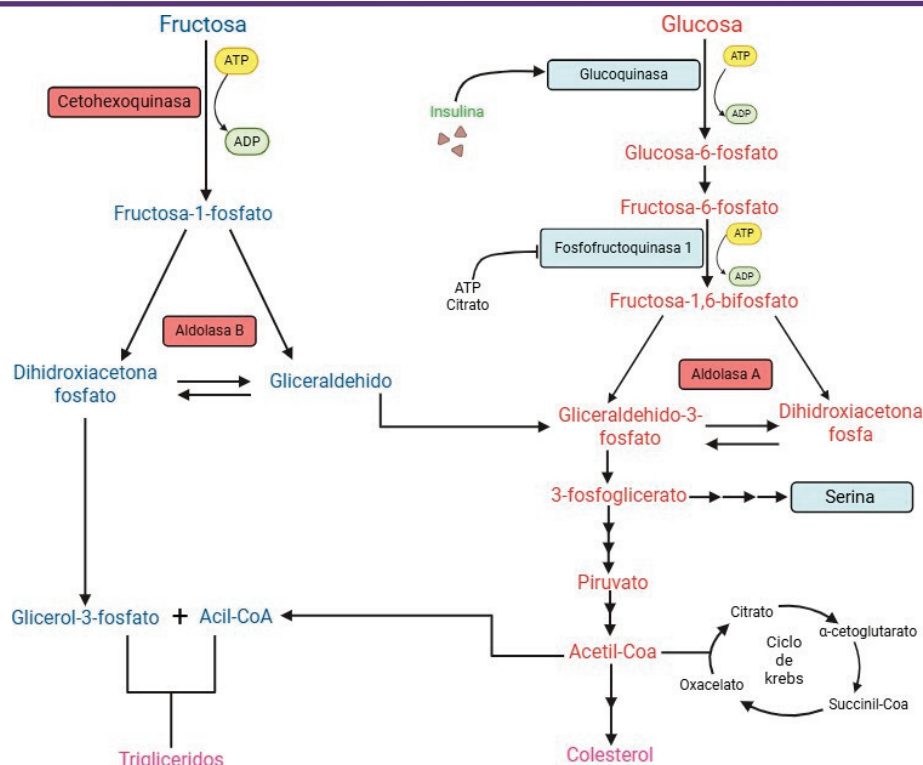


Figura 4. Metabolismo hepático de la glucosa y la fructosa. Imagen realizada con Biorender (www.biorender.com).

Diversos autores, entre ellos Herman y Birnbaum han demostrado cómo el metabolismo de la fructosa promueve una mayor secreción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) ricas en triglicéridos, incrementando así el riesgo de dislipidemia y de acumulación de grasa visceral (3). Por otro lado, la fructosa, al alterar la señal hormonal de la leptina e insulina, provoca un desequilibrio energético, ya que no estimula adecuadamente las respuestas homeostáticas que controlan la saciedad (3,4).

Por tanto, el metabolismo específico de la fructosa, caracterizado por su rápida conversión hepática en lípidos, elevada producción de ácido úrico y su deficiente regulación hormonal, constituye un factor determinante en el desarrollo de síndrome metabólico y sus patologías asociadas. Esta singularidad explica su mayor impacto en comparación con otros azúcares y justifica la creciente preocupación por su papel en la fisiopatología de enfermedades metabólicas y cardiovasculares.

1.3. Patologías asociadas al consumo de fructosa

El consumo excesivo de fructosa se ha relacionado de forma directa con múltiples alteraciones características del síndrome metabólico, tales como la obesidad, la hipertensión arterial, la resistencia a la insulina, la hipertrigliceridemia, las enfermedades cardiovasculares y el estrés oxidativo, siendo el hígado el órgano más afectado debido a su papel central en el metabolismo de este azúcar (1,3).

Numerosos estudios han demostrado que una elevada ingesta de fructosa induce la activación de la lipogénesis *de novo*, lo que conlleva una acumulación de triglicéridos en el hígado. Esta acumulación promueve el desarrollo de dislipidemia, caracterizada por un aumento de VLDL, un descenso del colesterol en HDL y un aumento de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) pequeñas y densas, altamente aterogénicas. Estos cambios se asocian con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y aterosclerosis en sujetos con alto consumo de azúcares añadidos, particularmente fructosa (1,4).



Además del impacto lipídico, el metabolismo hepático de la fructosa promueve la producción de ácido úrico. Tal y como se ha detallado en el apartado de metabolismo de la fructosa, la conversión de fructosa en fructosa-1-fosfato genera como subproducto el ADP que a su vez se transforma en AMP. El AMP puede sufrir una desaminación dando lugar a inosina monofosfato (IMP), o bien una fosforilación transformándose a inosina. Ambas moléculas son catabolizadas a hipoxantina y posteriormente a xantina, que por medio de la xantina oxidasa se convierte en ácido úrico (3). La hiperuricemia provocada por la fructosa se ha relacionado con la aparición de resistencia a la insulina, inflamación sistémica y estrés oxidativo (6). Estos efectos son especialmente preocupantes en individuos con predisposición a enfermedades metabólicas como obesidad o diabetes tipo 2.

Por otra parte, se ha demostrado que el consumo de fructosa favorece la acumulación de grasa visceral, ya que, como hemos comentado anteriormente, su metabolismo se salta dos de los puntos clave de regulación de la glucólisis, fomentando la producción descontrolada de triosas fosfato y su posterior conversión en ácidos grasos y triglicéridos (3,7). Además, se ha descrito que la fructosa activa los factores de transcripción ChREBP y la proteína de unión al elemento respuesta de esteroides tipo 1c (SREBP-1c, del inglés: *Sterol response element binding protein 1c*), ambos dos promueven la expresión de genes involucrados en la lipogénesis. A su vez, también se ha observado como dietas ricas en fructosa, disminuyen la expresión del receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR α , del inglés *Peroxisome proliferator-activated receptor alpha*), que a su vez favorece la oxidación de ácidos grasos. Por tanto, una mayor síntesis de ácidos grasos y triglicéridos, sumada a su reducido catabolismo, favorece una mayor liberación de VLDL al torrente sanguíneo, generando así hipertrigliceridemia (8).

En conclusión, las investigaciones llevadas a cabo hasta el momento respaldan que el con-

sumo elevado de fructosa provoca cambios desfavorables en el metabolismo lipídico y energético, con graves consecuencias sobre la función hepática y la salud cardiovascular. Estos efectos metabólicos adversos son especialmente relevantes en situaciones de una alta ingesta de forma prolongada, como ocurre en poblaciones expuestas donde abunda el consumo de bebidas azucaradas y productos ultraprocesados (3).

1.4. Epigenética y Programación Fetal

Según Bird, la epigenética es “la adaptación estructural de regiones cromosómicas con el fin de registrar, señalar o perpetuar estados de actividad alterados” (9). Otros autores la han descrito como la ciencia que estudia los cambios producidos en la expresión de los genes que son hereditarios, y que no se deben a alteraciones en la secuencia genética del ácido desoxirribonucleico (ADN) (10). Muchas enfermedades metabólicas, como la diabetes tipo 2, la obesidad o el hígado graso no alcohólico, están sujetas a cambios epigenéticos, de los cuales se pueden distinguir tres principales mecanismos reguladores, que son: la metilación del ADN, la modificación de las histonas y los micro-ácidos ribonucleicos (miARN) (11). Todos ellos, juegan un papel clave en la regulación de la diferenciación celular, la expresión génica específica de cada célula, la impronta parental, la inactivación del cromosoma X, así como la estabilidad y estructura genómicas (12).

El embarazo representa una etapa de alta vulnerabilidad metabólica, tanto para la madre como para el feto. Durante la gestación, se producen numerosos cambios fisiológicos y metabólicos destinados a asegurar el adecuado desarrollo fetal, entre ellos una mayor sensibilidad a estímulos nutricionales. La salud física y mental, el estilo de dieta, así como el ambiente al que se vea expuesta la madre durante el embarazo, tendrán un papel crucial que marcará la salud metabólica del feto, tanto en sus primeros años de vida como en la



edad adulta. Alteraciones endocrinas, agentes infecciosos o la biodisponibilidad de nutrientes, son algunos de los factores claves más importantes involucrados en la programación fetal. Según Marciniak y colaboradores “la programación fetal tiene lugar cuando el entorno óptimo en el que crece el feto se ve alterado por factores hostiles, especialmente durante los períodos críticos del desarrollo de los órganos esenciales” (13).

Además, varios estudios experimentales con modelos animales han demostrado que cambios metabólicos desencadenados durante los periodos prenatal y postnatal están estrechamente relacionados con el desarrollo de alteraciones metabólicas durante la edad adulta (14). Siguiendo este modelo, se cree que el consumo de dietas que contienen fructosa por parte de la madre ejerce un efecto adverso sobre la programación metabólica del feto que podrían desencadenar enfermedades metabólicas a largo plazo (15).

Todas estas modificaciones se transmiten de generación en generación a través de mecanismos epigenéticos, definidos como la serie de alteraciones en la expresión génica, sin afectar a la secuencia de ADN. Algunos de los mecanismos mejor descritos, son la metilación del ADN, la acetilación de histonas y los ARN no codificantes. Estas modificaciones son hereditarias y reversibles, y alteran la estructura y condensación de la cromatina, afectando de esta manera a la expresión del fenotipo (16).

Las modificaciones epigenéticas pueden alterar la morfología de los órganos del feto y comprometer el funcionamiento normal de las células (16). Se ha comprobado que la malnutrición y la sobrealimentación son perjudiciales para el desarrollo normal del feto. Por un lado, un déficit nutricional durante la gestación puede derivar en malformaciones en el feto que están directamente relacionadas con el desarrollo del síndrome metabólico en la edad adulta. Por otro lado, la descendencia de madres con problemas de obesidad o diabetes tipo 2, es más propensa a padecer obesidad en los primeros años de vida o en la edad adulta (17).

Así pues, el estudio de los efectos de la ingesta de fructosa en el embarazo es un campo de creciente interés, no solo por su importancia clínica inmediata en la propia gestación, sino también por su trascendencia para la salud de la descendencia.

Los principales mecanismos epigenéticos incluyen la metilación del ADN, que consiste en la adición de grupos metilo a residuos de citosina (a menudo en islas CpG en regiones promotoras), regulando la expresión génica (18). Este proceso es catalizado por ADN metiltransferasas (DNMT) que utilizan S-adenosilmetionina (SAM) como donante de metilos, y su alteración es clave en la embriogénesis (19). Otro mecanismo es la modificación de histonas, las proteínas que empaquetan el ADN en nucleosomas. La acetilación de histonas por enzimas HAT relaja la cromatina, favoreciendo la transcripción, mientras que las HDAC la compactan, reprimiendo la expresión génica (20). Finalmente, los ARN no codificantes (ARNnc) son moléculas de ARN que no se traducen a proteínas, pero regulan la expresión génica (21). Estos incluyen los microARN (miARN), que inhiben la traducción o degradan los ARNm diana, y los ARN no codificantes largos (ARNlnc) y circulares (ARNcirc), que modulan la transcripción y la estabilidad de otros ARN (22).

1.4.1 Fructosa durante el embarazo

Múltiples trabajos científicos han demostrado que el consumo excesivo de fructosa en madres gestantes, tanto en forma de sacarosa o HFCS, puede tener efectos perjudiciales en la descendencia adulta tales como el desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina e hipertensión (1,5). En este proceso, la placenta desempeña una función crítica, ya que actúa como órgano regulador para el transporte de nutrientes de la madre al feto, por lo que su correcto funcionamiento es primordial para el desarrollo óptimo del feto (23). Estudios realizados en modelos animales han puesto de manifiesto la importancia de la placenta en la

salud de la descendencia. Estos trabajos han demostrado que las placentas de madres expuestas a un consumo elevado en fructosa mostraban un mayor estrés oxidativo, además de una mayor producción de ácido úrico y alteraciones en los transportadores de glucosa (24,25,26).

Pese a que se ha demostrado la correlación entre el consumo de fructosa y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares o la obesidad, su consumo no está contraindicado en mujeres embarazadas (15). Datos experimentales han evidenciado que esta ingesta podría producir modificaciones en el desarrollo perinatal del feto, afectando a la glucemia, insulinemia, lipidemia y a las vías de señalización de la leptina. Así, se ha observado cómo la descendencia de madres alimentadas con dietas ricas en fructosa presenta dislipidemia y una mayor síntesis hepática de ácidos grasos (27).

Otros autores han demostrado que un consumo elevado de fructosa durante la gestación puede provocar modificaciones epigenéticas persistentes en la descendencia. Un ejemplo

bien documentado es la alteración en la metilación del promotor del gen LXR α (receptor X hepático alfa), un receptor nuclear clave del metabolismo lipídico y del colesterol (15). En estudios realizados con ratas, se observó que los machos descendientes de madres alimentadas con dietas ricas en fructosa presentaban una hipermetilación en la región promotora del gen LXR α , lo que se asoció con una menor expresión del receptor y sus genes diana, como el receptor SR-B1 (del inglés: *Scavenger receptor class B type 1*), el receptor ABCG5 (del inglés: *ATP Binding Cassette Subfamily G Member 5*) y el colesterol 7-alfa hidroxilasa (citocromo p450 tipo 7 A1, CYP7A1). En el grupo de las descendientes hembra sucedió lo contrario, tanto en la metilación del promotor de LXR α como en la expresión del gen y sus genes diana. Todo esto sugiere la existencia de diferencias dependientes del sexo en la programación epigenética inducida por la fructosa. También se observó, que en la descendencia macho los niveles de ácido fólico, implicado en el metabolismo de un carbono, aumentaron y lo opuesto sucedió en las hembras. Estos datos ponen de manifiesto que el estado de

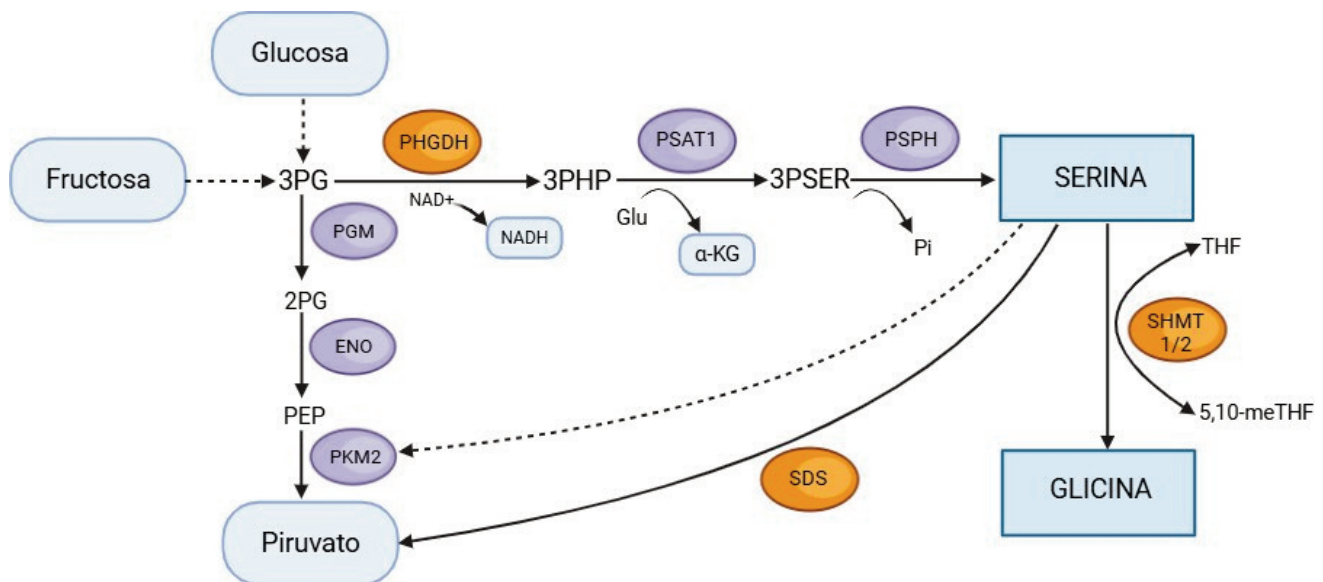


Figura 5. Representación esquemática del metabolismo de la serina a partir de 3-fosfoglicerato en el hígado. 2-PG: 2-fosfoglicerato; 3PG: 3-fosfoglicerato; 3PHP: 3-fosfohidroxipiruvato; 3PSER: 3-fosfoserina; α -KG: α -cetoglutarato; NADH: dinucleótido de nicotinamida adenina; PEP: fosfoenolpiruvato; PHGDH: 3-fosfoglicerato deshidrogenasa; PKM2: piruvato quinasa M2; ENO: enolasa; PSAT1: 3-fosfoserina aminotransferasa 1; PSPH: fosfoserina fosfatasa; SDS: serina deshidrogenasa; SHMT1: serina hidroximetiltransferasa 1; SHMT2: serina hidroximetiltransferasa 2; THF: tetrahydrofolato; 5,10-meTHF: 5,10-metilentetrahydrofolato. Imagen realizada con Biorender (www.biorender.com).

metilación de la región promotora del gen de LXR α puede estar relacionado con la disponibilidad de folato, clave para la síntesis de nucleótidos, la regeneración de la metionina y la metilación del ADN (15).

1.5. Metabolismo de la serina

La L-serina es un aminoácido de vital importancia en la homeostasis celular. La principal fuente de este aminoácido son las proteínas, donde su contenido puede variar entre un 2-5%. A nivel endógeno, se puede sintetizar a partir del 3-fosfoglicerato, un intermediario de la glucólisis, y de la glicina.

Aunque no es un aminoácido esencial en el sentido estricto de la palabra, se ha descrito como “condicionalmente esencial” durante situaciones de gran necesidad metabólica o estrés fisiológico, es decir, en una situación de enfermedad inflamatoria, cáncer o enfermedad infecciosa (24). Funcionalmente, la L-serina participa en la biosíntesis de nucleótidos y lípidos de membrana, así como en la de los aminoácidos glicina y cisteína, y en la síntesis de glutatión, molécula que actúa como regulador del estado redox de la célula (28,29).

El primer paso en la síntesis de serina consiste en la oxidación del 3-fosfoglicerato (3PG), un intermediario de la glucólisis, a 3-fosfohidroxipiruvato (3-PHP) utilizando como coenzima NAD⁺, que se reduce a su vez a NADH+H⁺, a través de una reacción catalizada por la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa (PHGDH), enzima limitante y reguladora de la ruta. El NADH formado podría utilizarse como dador de electrones en la cadena respiratoria para generar energía, conectando así esta ruta con el metabolismo energético (28). En segundo lugar, el 3-fosfohidroxipiruvato reacciona con glutamato y experimentan una transaminación que da lugar a 3-fosfoserina y alfa-cetoglutarato (aKG), en un proceso catalizado por la 3-fosfoserina aminotransferasa (PSAT1). Esta etapa constituye una reacción anaplerótica del ácido cítrico, dado que genera alfa-cetoglutarato, que es un intermediario de dicho ciclo. Finalmente, se produce la hidrólisis irreversible del grupo fosfato por medio de la fosfoserina fosfatasa (PSPH), dando lugar a L-serina y la liberación de un grupo fosfato inorgánico.

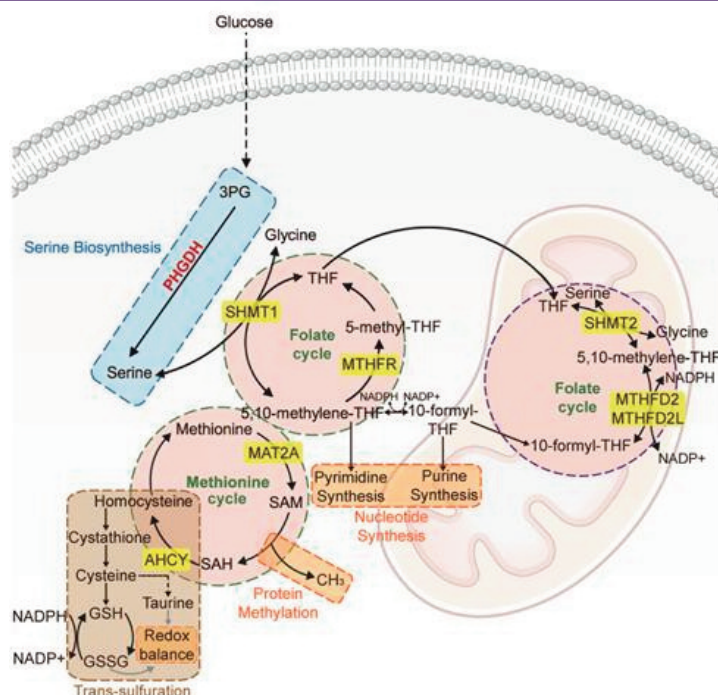


Figura 6. Interconexión de la biosíntesis de serina con el ciclo del folato-metionina y el metabolismo de un carbono. Imagen extraída de (28).



La L-serina es también un intermediario crítico con una influencia clara en la regulación epigenética. De hecho, está directamente implicada en el metabolismo de un carbono a través de la vía del folato/metionina. La conversión de serina en glicina mediante la acción de la serina hidroximetiltransferasa (SHMT) produce el 5,10-metilentetrahidrofolato (5,10-CH₂-THF) a partir del tetrahidrofolato (THF), reponiendo la reserva de un carbono (28). El 5,10-CH₂-THF es crucial para la síntesis de purinas, pirimidinas y la formación de 5-metiltetrahidrofolato (5-CH₃-THF) que posteriormente cede su grupo metilo a la homocisteína dando lugar a metionina, en una reacción catalizada por la metionina sintasa. A continuación, la metionina producida se metila para formar S-adenosilmetionina (SAM), el principal donante de grupos metilo en la metilación del ADN, el ARN y las proteínas, integrando así el metabolismo de la serina con la regulación epigenética (28,29). Por otro lado, la homocisteína también puede servir de precursora para la síntesis de glutatión.

La serina ejerce un papel importante en el desarrollo de las células tumorales, dado que su metabolismo genera multitud de precursores necesarios para mantener el elevado grado de división celular que caracteriza a este tipo de células.

Desde el punto de vista fisiológico, la serina también regula procesos inmuno-metabólicos implicados en la homeostasis pulmonar, especialmente en células epiteliales y macrófagos. Se ha descrito que, en presencia de agentes infecciosos, la serina promueve la biosíntesis de lípidos y la producción mitocondrial de ATP, mecanismos esenciales para preservar la integridad de la barrera epitelial y la respuesta inmune innata frente a patógenos respiratorios (30).

1.5.1 Transporte de la serina

Durante el periodo perinatal, la placenta ejerce una función esencial en el desarrollo del feto, ya que actúa como intermediario en

el transporte de nutrientes entre la madre y el feto. Entre las moléculas que son transportadas de la madre al feto a través de la placenta se encuentran los aminoácidos. Este proceso de transferencia está altamente regulado e incluye 2 etapas: en primer lugar, los nutrientes son captados por las microvellosidades (MVM) de la membrana plasmática del sincitiotrofoblasto a partir de la sangre materna, y posteriormente, son liberados al sistema circulatorio del feto a través de la membrana basal (31).

El sincitiotrofoblasto es la principal barrera para la transferencia de nutrientes entre la madre y el feto. En primer lugar, los aminoácidos deben atravesar la membrana plasmática de las microvellosidades (MVM) orientada a la madre y, posteriormente, la membrana basal orientada al feto. Además, en el sincitiotrofoblasto los aminoácidos pueden sufrir transformaciones, pudiendo ser convertidos en nuevos aminoácidos (Figura 7).

Se ha visto que la concentración de aminoácidos es mayor en el plasma de los fetos que en el de la madre, lo que indica que el transporte de aminoácidos a través de la placenta se da de manera activa (31).

Existen tres sistemas para el transporte de aminoácidos a través de la placenta, clasificados en función de su especificidad y mecanismo de acción. Estos incluyen el sistema A, dentro del cual se incluyen los transportadores de aminoácidos neutros acoplados a sodio (SNAT, del inglés: *sodium-coupled neutral amino acid transporters*) 1 (SNAT1), 2 (SNAT2) y 4 (SNAT4). Se trata de un sistema activo dependiente de sodio, específico para aminoácidos pequeños y neutros, como la serina. Está estrechamente relacionado con el suministro de precursores metabólicos al feto, tanto es así, que se ha observado que una disminución de su actividad provoca una restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) (32). Por otro lado, se encuentra el sistema L, el cual es un intercambiador independiente de sodio involucrado en el transporte de aminoácidos neutros de cadena larga ramificada, como la

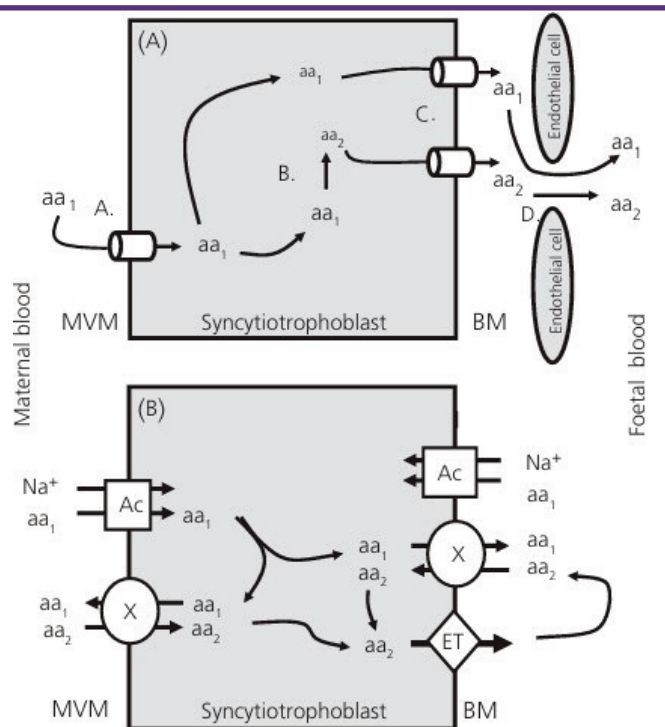


Figura 7. Mecanismos de transporte de aminoácidos. (A) A: los aminoácidos (aa) de la sangre materna son captados por transportadores de la membrana apical del sincitiotrofoblasto placentario. B: Dentro del sincitiotrofoblasto, los aminoácidos se metabolizan para producir nuevos aminoácidos. C: Los aminoácidos son transportados a través de la membrana basal por proteínas transportadoras. D: Los aminoácidos se difunden en la sangre fetal a través de las fenestraciones del endotelio capilar. (B) Los aminoácidos son captados por transportadores acumulativos (Ac) o intercambiadores (X) (31).

leucina o la isoleucina. Dichos aminoácidos son esenciales en la síntesis proteica y señalización celular, activando la vía mTOR (del inglés: *mammalian target of Rapamycin*), responsable de regular la proliferación celular. Por último, el sistema ASC incluye los transportadores alanina-serina-cisteína (ASC) 1 (ASCT1) y 2 (ASCT2). También transporta serina y otros aminoácidos neutros de cadena corta, como la cisteína y la alanina. Actúa como un transportador facilitador, promoviendo el equilibrio homeostático intracelular de estos aminoácidos (32,33). Como ya hemos comentado anteriormente, aunque la serina es considerada un aminoácido no esencial, es clave en el desarrollo del feto ya que actúa en

la síntesis de fosfolípidos, nucleótidos, glutatión y componentes del sistema nervioso central (33). Además de la capacidad de la placenta de sintetizar serina de novo a partir del intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato, hay evidencias de que también puede ser transportada de manera activa desde la circulación materna al feto, particularmente en situaciones en las que la demanda fetal sobrepasa la capacidad biosintética placentaria (31).

Algunos estudios han demostrado que, en situaciones adversas exhibidas durante el embarazo, como, por ejemplo, la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), el funcionamiento normal del sistema A se ve alterado, lo que provoca una disminución del transporte de serina y otros aminoácidos esenciales de la placenta al feto (32). Asimismo, hábitos poco saludables de la madre como fumar, la inactividad física, la depresión, el estrés o desórdenes neurológicos pueden modular negativamente la programación fetal del neonato, además de afectar a la función placentaria y, por consiguiente, a la biodisponibilidad de nutrientes para el adecuado desarrollo del feto (13).

2. HIPÓTESIS

Con la evidencia científica expuesta anteriormente, en el presente trabajo nos planteamos la hipótesis de que el consumo materno de fructosa durante la gestación puede afectar al metabolismo de la serina y glicina, lo que podría alterar sus niveles plasmáticos, tanto en las madres gestantes como en sus fetos. Para corroborar esta hipótesis, planteamos los siguientes objetivos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

El principal objetivo de este trabajo experimental es estudiar el impacto del consumo materno de fructosa durante la gestación

sobre la expresión de los genes involucrados en la biosíntesis de serina, su transformación en glicina y su conversión a piruvato en ratas gestantes y evaluar si este consumo materno pudiera afectar a la descendencia hembra cuando está gestante y a sus fetos.

3.2. Objetivos específicos

Para alcanzar el objetivo general, proponemos los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar el efecto de la ingesta de fructosa durante la gestación en el metabolismo de la serina en el hígado de ratas gestantes.
- Estudiar el metabolismo de la serina en el hígado de gestantes descendientes de madres-fructosa expuestas o no a este carbohidrato durante su propia gestación.
- Evaluar el metabolismo y transporte de la serina en la placenta de las ratas descendientes de madres con fructosa, como principal órgano encargado del transporte de nutrientes de la madre al feto, a través del estudio de la expresión génica de los transportadores implicados.
- Estudiar el metabolismo de la serina en el hígado de los fetos con el fin de evaluar si existe un efecto de transmisión intergene-

racional de las alteraciones metabólicas asociadas al consumo de fructosa durante la gestación.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño experimental

Se utilizaron muestras de hígado y placenta de rata Sprague-Dawley. Los protocolos de manejo animal fueron revisados y aprobados por un Comité de Ética de Investigación institucional, siguiendo las directrices para el cuidado de animales de experimentación.

Se llevaron a cabo dos diseños experimentales:

Diseño experimental 1:

Ratas hembra Sprague-Dawley se cruzaron con machos y, a lo largo de toda la gestación, se les permitió el acceso libre a agua sin aditivo (grupo Control) o bien agua suplementada con un 10% de fructosa (p/v) (grupo Fructosa) o 10% de glucosa (grupo glucosa). Los tres grupos experimentales fueron los siguientes:

- Gestantes F0 que consumieron agua durante la gestación (Control, C).
- Gestantes F0 que consumieron fructosa 10% (p/v) durante la gestación (Fructosa, F)
- Gestantes F0 que consumieron glucosa 10% (p/v) durante la gestación (Glucosa, G)

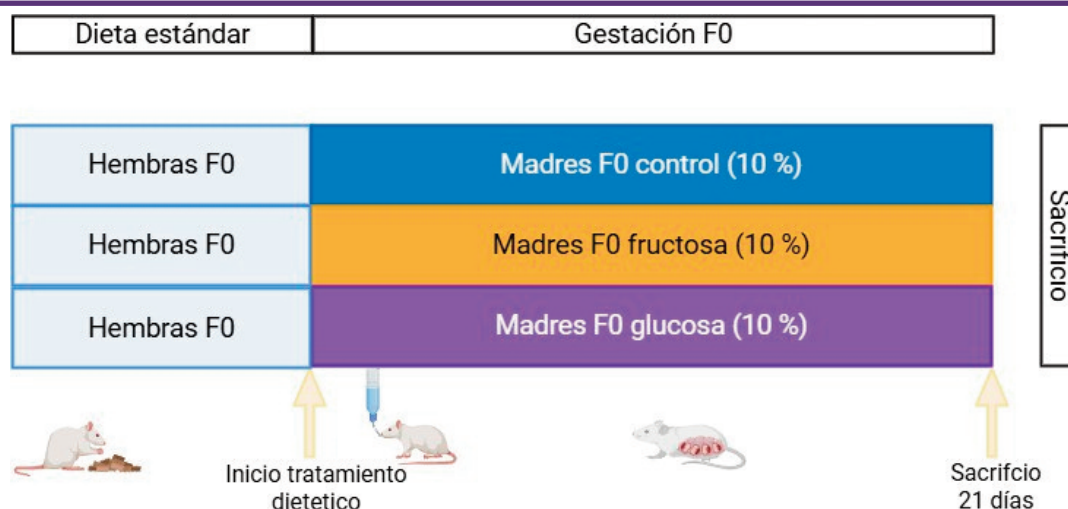


Figura 8. Diseño experimental del procedimiento 1. Control: Ratas gestantes que consumieron agua durante la gestación. Fructosa: Ratas gestantes cuyas madres consumieron fructosa (10%) durante la gestación. Glucosa: Ratas gestantes cuyas madres consumieron glucosa (10%) durante la gestación. Imagen realizada con Biorender (www.biorender.com).



Diseño experimental 2:

Ratas hembra Sprague-Dawley se cruzaron con machos y a lo largo de toda la gestación, se les permitió el acceso libre a agua sin aditivo o bien agua suplementada con un 10% de fructosa (p/v) (generación F0). Tras parir, se realizó un ajuste de las camadas a 9 crías y se les administró agua sin aditivo durante la lactancia. Cuando las crías alcanzaron los 20 días de edad, se destetaron y se les dejó crecer, permitiéndoles el acceso a agua sin aditivo (generación F1). Las hembras F1 a las 8 semanas de edad se cruzaron con machos controles y se dividieron, tal y como se describe en la figura 9, creándose así tres grupos experimentales:

- Gestantes F1 cuyas madres consumieron agua durante la gestación y ellas consumieron agua durante su propia gestación (Control-Control, CC).
- Gestantes F1 cuyas madres consumieron fructosa 10% (p/v) durante la gestación y ellas consumieron agua sin aditivo durante su gestación (Fructosa-Control, FC).
- Gestantes F1 cuyas madres consumieron fructosa 10% (p/v) durante la gestación y ellas consumieron fructosa 10% (p/v) durante su gestación (Fructosa-Fructosa, FF).

Las gestantes (5 hembras por grupo experimental) fueron sacrificadas en el día 21 de gestación, y se recogió el hígado y las placentas. Los fetos se pesaron y fueron sacrificados para obtener el hígado. En este caso, se llevó a cabo un pool de los plasmas e hígados de fetos procedentes de la misma madre, que fueron almacenados a -80°C .

4.2. Estudio de la expresión génica del ARNm

4.2.1. Homogenización de los tejidos y extracción del ARN total

Para la extracción del ácido ribonucleico total (ARN) se utilizó el kit Ribopure™ (Invitrogen, ThermoFisher, EE. UU.). Para ello, se homogeneizaron 100 mg de hígado materno o fetal en un TissueLyser LT (Qiagen, EE. UU.) con TRI Reagent® (Invitrogen, ThermoFisher., EE. UU.) que, gracias al fenol y al tiocianato de guanidina, inactiva las nucleasas y lisa las células. A continuación, las muestras se dejaron reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente para descomponer los complejos nucleoproteicos. Posteriormente, el homogeneizado se centrifugó a 16.000 xg durante 1.º minuto a 4°C . Seguido, se añadió bromocloropropano (Invitrogen, ThermoFisher., EE. UU.) al sobrenadante, lo que provocó la separación de ARN en

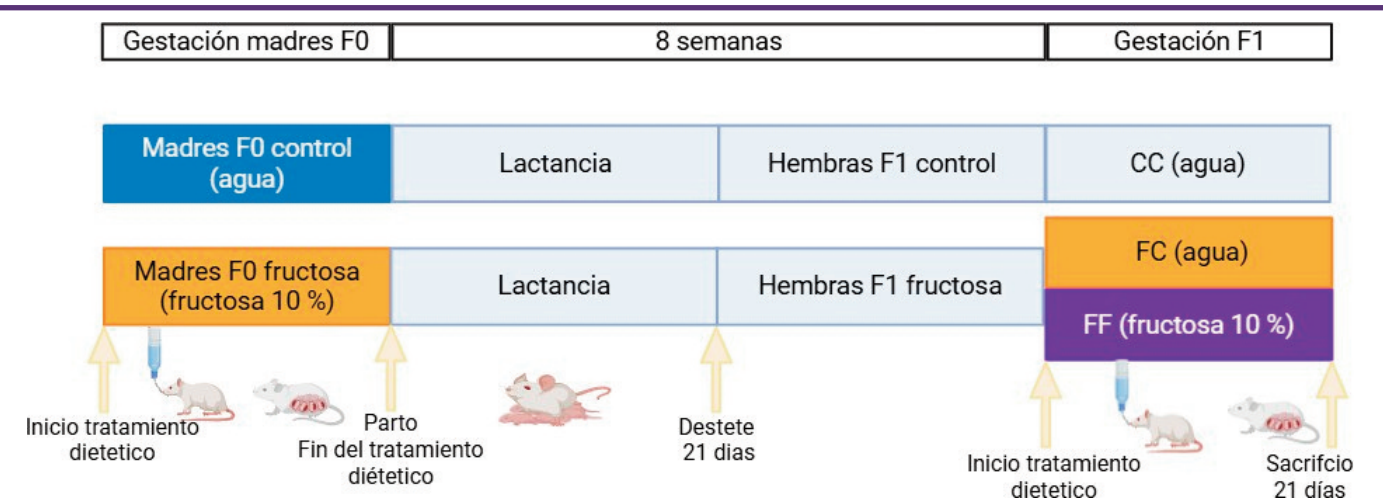


Figura 9. Diseño experimental del procedimiento 2. CC: Las ratas gestantes y sus madres consumieron agua durante la gestación. FC: Ratas gestantes cuyas madres consumieron fructosa (10 %) durante la gestación y ellas tomaron agua sin aditivo durante la gestación. FF: Ratas gestantes cuyas madres consumieron fructosa (10 %) durante la gestación y ellas tomaron fructosa. Imagen realizada con Biorender (www.biorender.com).



la fase acuosa superior, quedando las proteínas y el ADN en la interfase y en la fase orgánica inferior. Para ello, las muestras se centrifugaron de nuevo a 16.000 xg y 4 °C durante 10 minutos. La fase superior, donde se encuentra el ARN, se recogió para proceder a la purificación final de este último.

4.2.2. Purificación del ARN

La purificación final del ARN se realizó por unión de este a unos filtros de fibra de vidrio y, tras repetidos lavados y su posterior elución con un tampón bajo en sales. Brevemente, 600 µL procedentes de la extracción del ARN del apartado anterior, se transfirieron a un cartucho con filtro de kit Ribopure™ (Invitrogen, ThermoFisher, EE. UU.) previamente insertado en un tubo Eppendorf limpio. A continuación, se centrifugaron los tubos a 13.500 xg y temperatura ambiente durante 30 segundos y se desechó el líquido filtrado, ya que el ARN permanece unido al filtro del cartucho. Después, se añadieron 500 µL de solución de lavado (Invitrogen, ThermoFisher., EE.UU.) al filtro y se centrifugaron los tubos en las mismas condiciones descritas, deshaciéndonos de nuevo del filtrado. El lavado se repitió dos veces para eliminar totalmente las impurezas. A continuación, los cartuchos se transfirieron a un tubo nuevo y se añadieron 100 µL de tampón de elución (Invitrogen, ThermoFisher., EE.UU.). Se incubaron a temperatura ambiente durante 2 minutos para solubilizar el ARN extraído en el tampón de elución y, después, se centrifugaron a 12.000 xg y a temperatura ambiente durante 30 segundos. El filtrado obtenido contenía el ARN total de la muestra.

4.2.3. Cuantificación, pureza e integridad del ARN

Para determinar la concentración y pureza del ARN total obtenido, se utilizó un NanoDrop® One (ThermoFisher., EE. UU.). La pureza se obtiene a partir de las medidas de absorbancia a 260/280 nm (que nos da información sobre las posibles impurezas proteicas) y 260/230 nm (que nos indica si han quedado impurezas del

disolvente orgánico). Cuanto más se acerquen estos dos cocientes a 2,0, mayor será la pureza del RNA obtenido. Tomamos nuestras muestras como válidas si su relación era de 1,8-2,0. Todas las mediciones se realizaron por duplicado.

Para comprobar la integridad del ARN, se realizó una electroforesis en un gel de agarosa. Para ello, se preparó un gel de agarosa al 2 % teñido con Red Safe™ (iNtRON Biotechnology, Corea del Sur), se cargó con 500 ng de ARN y se dejó a 90 V durante 20 minutos para la separación del ARN. Las bandas respectivas de ARN, 18s y 28s (principales ARN ribosomales de la célula) se observaron bien diferenciadas, lo que nos aseguró que el ARN estaba íntegro y no se había degradado (Figura 10).

4.2.4. Tratamiento con DNasa

Después de la extracción con sales de guanidino y solventes orgánicos, las muestras fueron tratadas con un tratamiento riguroso con el kit Turbo DNA-free™ (Invitrogen, ThermoFisher., EEUU), para eliminar las posibles trazas de ADN contaminante que podrían interferir con los ensayos realizados posteriormente. Brevemente, a 10 µg del ARN obtenido se le añadió 3 µL de 10X Turbo DNase Buffer, 3 µL de Turbo DNase (2 U/L) y agua libre de RNasas hasta un volumen final de 30 µL. Tras incubar la mezcla a 37 °C durante 30 minutos, la DNasa fue inactivada añadiendo 6 µL de DNase Inactivation Reagent e incubando la mezcla a temperatura ambiente 2 minutos. Los tubos se centrifugaron a temperatura ambiente a 16.000 g durante 2 minutos para eliminar el reactivo de inactivación. El

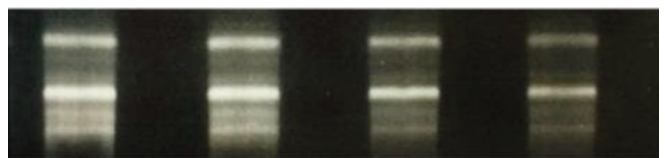


Figura 10. Gel de agarosa para verificar la integridad del ARN extraído. Tamaño esperado para el producto de amplificación: 236 pares de bases. Marcador molecular cuya primera banda es de 100 pb.

Tabla 1. Protocolo de la PCR de verificación para el gen RPS29

Paso	Temperatura	Tiempo	Ciclo
Desnaturalización inicial	95 °C	3 minutos	1
	95 °C	30 segundos	30
Amplificación	68 °C	1 minuto	
	72 °C	1 minuto	
Extensión final	72 °C	10 minutos	1

sobrenadante, que contiene el ARN libre de ADN, se recogió y se trasvasó a tubos nuevos, y finalmente se cuantificó la concentración de ARN siguiendo el mismo protocolo que en el apartado anterior.

Para asegurarnos de que las muestras no estaban contaminadas con ADN se llevó a cabo una reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Si la muestra se encuentra completamente libre de ADN, la polimerasa no va a amplificar las regiones del gen de referencia RPS29 delimitadas por sus cebadores. Para asegurar que la PCR se había desarrollado correctamente, se procesó al mismo tiempo un control positivo (muestra de ADN complementario 5 ng/ μ L) junto con las muestras y un control negativo (agua destilada). Para llevar a cabo la PCR se utilizaron 125 ng de ARN a los que se les adicionó 12,5 μ L de NZYtaq II 2x Green Master mix (NZYTech, Portugal), 2 μ L de cebadores F y R de RPS29 (10 μ M) y agua destilada hasta un volumen final de 25 μ L. NZYtaq II 2X Green Master Mix (NZYtec, Portugal) es una mezcla lista para su uso que contiene Taq Polimerasa, dNTPs, tampón para la PCR, MgCl₂ y tampón de carga (con 2 colorantes, uno azul y otro amarillo). Las condiciones de la PCR se especifican en la Tabla 1 y fueron realizadas en un termociclador iCycler (Bio-Rad, California, EEUU).

Tras la realización de la PCR, las muestras se cargaron en un gel de agarosa al 2 % teñido con Red Safe TM (iNtRON Biotechnology, Corea del Sur) y fueron sometidas a electroforesis a 120 V. Los resultados se visualizaron en un

transiluminador UVdoc System con cámara incorporada (Uvitec, Reino Unido), utilizando luz ultravioleta a 312 nm. La completa eliminación del ADN se aseguró con la ausencia de banda del producto de PCR en las muestras (Figura 11).

4.2.5. Retrotranscripción del ARNm

Para poder realizar los estudios de expresión génica, es necesario que el ARN mensajero (ARNm) se retrotranscriba a ADN complementario (ADNc), y para ello se utilizó el kit SuperScript® II Reverse Transcriptase (Invitrogen, EE. UU.). Brevemente, se llevó a cabo el siguiente protocolo: a 2,5 ng de ARN tratado con DNasa se le adicionó 1 μ L de oligo d(T) 70 μ M (Sigma Chemical Co., EE. UU.) y agua ultrapura estéril hasta un volumen final de 12 μ L. La mezcla se mantuvo a 72 °C durante 10 minutos en un Termociclador iCycler (Bio-Rad, EE. UU.). Posteriormente, se adicionaron 4 μ L de First Buffer 5x (Invitrogen, EE. UU.), 2 μ L de DTT

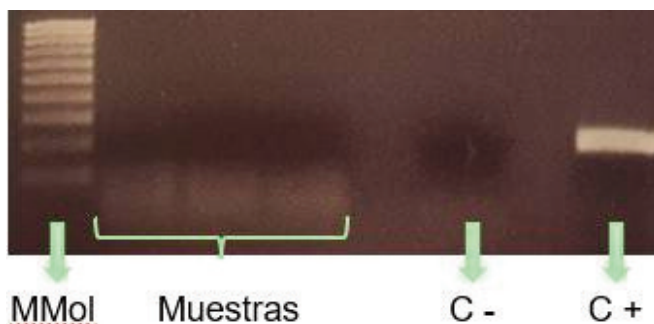


Figura 11. Gel de verificación de la eliminación completa de ADN contaminante.

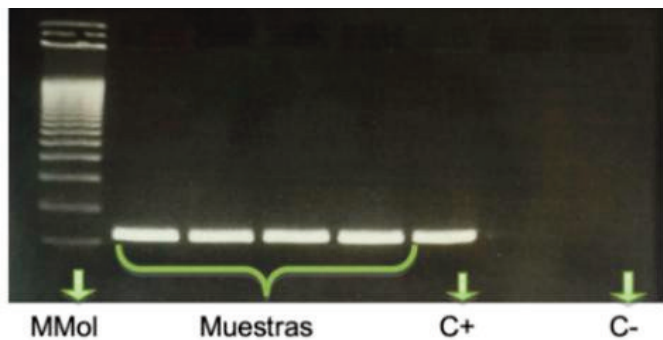


Figura 12. Gel de verificación de la funcionalidad del ADNc obtenido. Tamaño esperado del producto de amplificación RPS29: 236 pb. Marcador molecular (M Mol) cuya primera banda es de 100 pb.

(ditiotreitól) 0.1 M (Invitrogen, EE. UU.) y 1 µl de dNTPs 40 µM (Sigma Chemical Co., EE. UU.). La mezcla se incubó a 42 °C durante 2 minutos en el termociclador. Finalmente, se adicionó 1 µL de transcriptasa inversa 100 U/µL (Invitrogen, Estados Unidos) y se mantuvo a 42 °C durante 50 minutos, seguido de 15 minutos a 72 °C para obtener el ADNc.

Una vez obtenido el ADNc, se llevó a cabo la comprobación de la funcionalidad de dicho ADNc mediante PCR, siguiendo el mismo protocolo que en el apartado anterior. En este

caso, se debe obtener una banda correspondiente al gen de referencia RPS29 para asegurarnos de que las muestras de ADNc son funcionales.

4.2.6. Estudio de la expresión génica por PCR a tiempo real

La PCR a tiempo real es una técnica cualitativa y cuantitativa, que permite detectar en tiempo real la amplificación de una región específica del ADN según se va produciendo. Esto se consigue gracias a una molécula fluorescente, el SYBR-Green I, que se intercala en la doble hélice de ADN, aumentando unas 1.000 veces su fluorescencia cuando está unida a este (Figura 13). La cantidad de fluorescencia emitida será directamente proporcional al producto amplificado.

El ciclo de amplificación consiste en 3 fases: background o fondo, exponencial y meseta. El proceso se basa en la medición del ciclo umbral (Cp), que es el ciclo en el que la señal de fluorescencia excede un umbral definido. Este valor Cp se correlaciona inversamente con la cantidad inicial del gen de interés; es decir, cuanto más bajo sea el valor de Cp, mayor será la expresión de ese gen en la muestra

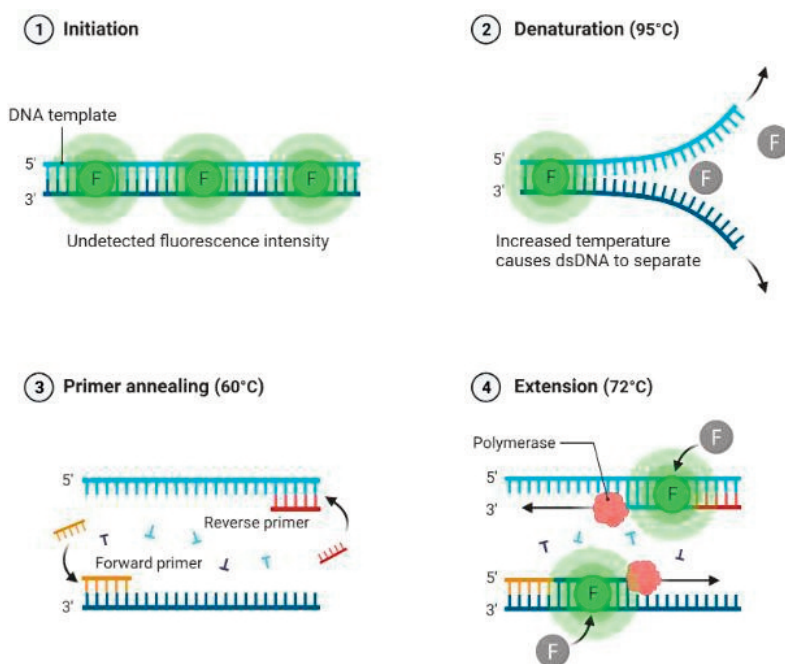


Figura 13. Proceso de amplificación y detección por fluorescencia del producto de amplificación mediante la unión del SYBR-Green I. Imagen realizada con Biorender (www.biorender.com).

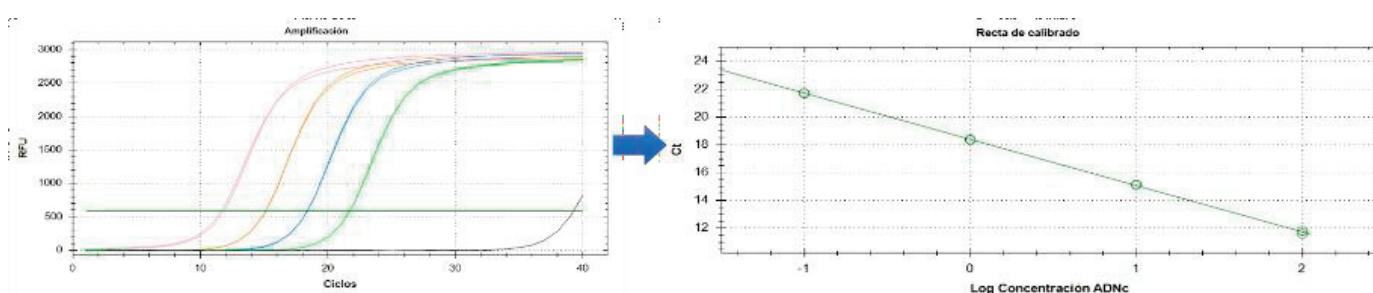


Figura 14. Curva de amplificación y recta de calibrado de una qPCR

(34). Además, la eficiencia de la reacción y la linealidad del rango de detección se determinan mediante la construcción de una recta de calibrado (Figura 14), que se obtiene al realizar diluciones seriadas 1/10 de una muestra patrón del ADNc diana (35). La recta de calibrado obtenida relaciona el valor C_p de cada dilución con el logaritmo de la cantidad de ADN inicial. Utilizaremos la recta para obtener la eficiencia de los cebadores utilizados y para medir la expresión de los genes de interés.

4.2.6.1. Protocolo experimental de la PCR a tiempo real

Para realizar la PCR a tiempo real se utilizó un termociclador de PCR a tiempo real CFX96® Touch (Bio-Rad, California, EE. UU.) y los cebadores que se detallan en la tabla 3 (IDT Technologies, EE. UU.). Los volúmenes de reactivos que se utilizaron en cada muestra fueron 10 μ L de *SYBR Premix Ex Taq* (Takara Bio Inc., Japón), 1 μ L de cebador F 10 μ M (IDT Technologies, EE. UU.), 1 μ L de cebador R 10 μ M (IDT Technologies, EE. UU.), 2 μ L de muestra de ADNc y 6 μ L de agua mili-Q estéril. Las muestras de hígado y placenta fueron diluidas 1/30 para asegurarnos de que los valores C_p de las distintas muestras para todos los genes estuvieran dentro de la recta de calibrado ($C_p < 30$ ciclos), ya que, si no, hay mayor probabilidad de encontrar productos de amplificación inespecíficos, y por tanto la amplificación pierde eficiencia. Para hacer las diluciones se utilizó un ADNc con una concentración de 5 ng/ μ L.

Los parámetros programados para cada gen se obtuvieron de la base de datos de secuen-

cias de cebadores RT-PCR Primer Sequence for Atlas Nylon Arrays (Clontech, EEUU) o de la aplicación para el diseño de cebadores Primer BLAST. El protocolo llevado a cabo para la amplificación de cada gen en el CFX96®, viene descrito en la tabla 2.

Tabla 2. Protocolo de PCR a tiempo real general utilizando para los estudios de expresión génica el CFX96

Preincubación	1 ciclo	
95 °C	3 minutos	
Amplificación	40 ciclos	
95 °C	10 segundos	
68 °C	30 segundos	
72 °C	45 segundos	Medida
Curva de fusión	1 ciclo	
65 °C	5 segundos	Media continua
95 °C		

4.2.7. Análisis estadístico

Los ensayos se realizaron con 5 animales por grupo. Los efectos del tratamiento se analizaron mediante análisis unidireccional de la varianza (ANOVA). Cuando estas condiciones resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,05$), las diferencias se analizaron mediante el test de Tukey, utilizando el programa infor-



mático SPSS (versión 15). cuando la varianza no era homogénea, se USÓ el test *post hoc* de Tamhane. Los resultados se han expresado como media \pm error estándar. Cuando las diferencias entre los grupos fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$), se indicaron con diferentes letras.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Efecto del consumo de fructosa en el metabolismo hepático de la serina en gestantes generación F0

Esta parte del estudio se realizó con el fin de averiguar si el consumo de fructosa o glucosa durante la gestación produce cambios en la expresión de los genes implicados en la síntesis de serina (PHGDH), su transformación a piruvato (SDS) o su interconversión en glicina (SHMT1).

El 3-fosfoglicerato es un intermediario de la glucólisis y sirve como precursor para la ruta de síntesis de la serina. La fructólisis y la glucólisis convergen en la formación de gliceraldehído-3-fosfato, que posteriormente es transformado a 3-fosfoglicerato. Por ello, el consumo de fructosa o glucosa podría alterar la expresión de la enzima PHGDH, que cataliza la etapa limitante de la ruta metabólica de síntesis de serina (28).

Como se puede ver en la figura 15, se observan diferencias significativas en la expresión de las tres enzimas en las ratas gestantes que consumieron ambos carbohidratos durante su gestación, respecto al grupo control.

Tabla 3. Cebadores utilizados de cada gen específicos para rata.

GENES	Primer F	Primer R	Tm	Amplicón	Procedencia
RPS29	5'-TGAAGGCAAGATGGGTACCAGCAGC-3'	5'-CAGGGTAGACAGTTGGTTTCATTGGG-3'	68	236pb	Clontech
PHGDH	5'-AGAGCTGAACGGGAAGACAC-3'	5'-AAAGGAGGCAGCGACTTCTG-3'	60	136pb	PrimerBLAST
PSAT	5'-ACGCCTCCTACGTGTACTTC-3'	5'-AGCACCAGCGAAAATCACAC-3'	60	161pb	PrimerBLAST
PSPH	5'-GCTCAACATCCCCACAACCA-3'	5'-ACGTTGCCTCCAAAGCCAAT-3'	60	234pb	PrimerBLAST
SHMT1	5'-CTTCTCAGAAAACCCACGCT-3'	5'-ATCAGCTCCAATCCGACCCT-3'	60	184pb	PrimerBLAST
SHMT2	5'-TCTTTACTTCGGACCACTCGG-3'	5'-GCAGAAGTTCTCTGAGGCG.A-3'	60	228pb	PrimerBLAST
SDS	5'-TCAAGATCCGAGGCATTGGG-3'	5'-GTGGTGCTTGGCACAACAAT-3'	60	154pb	PrimerBLAST
SLC1A4	5'-TGCTCTGGCGTTCATCATCA-3'	5'-TGCAGACGTAGAGAATGCGG-3'	60	178pb	PrimerBLAST
SLC1A5	5'-TTTCCTGGTCACCACACTGCTC-3'	5'-CACGACCAAGCCCAGAATGTT-3'	60	298pb	PrimerBLAST
SNAT1	5'-TCCCCGCCAGTCTTACAG-3'	5'-GAATAGAGATGCCCCGAGACCC-3'	60	152pb	PrimerBLAST
SNAT2	5'-CTCATACCCACGAAGCAGG-3'	5'-TCGTTGGCAGTCTTGAGGAG-3'	60	300pb	PrimerBLAST

En primer lugar, tanto el consumo de fructosa como el de glucosa en ratas gestantes condujo a un aumento significativo en la expresión de la enzima PHGDH (Figura 15A), por lo que se deduce que ambos azúcares están activando la ruta de la síntesis de serina durante la gestación. En cambio, la expresión de la enzima SDS que cataliza la conversión de serina en piruvato, el cual puede ser destinado a la gluconeogénesis (29), transformarse a alanina o lactato, o servir como precursor en la síntesis de ácidos grasos o colesterol (36), disminuye significativamente cuando se consume fructosa (Figura 15B). Estos resultados ponen de manifiesto que la ingesta de fructosa en ratas gestantes induce una mayor producción de serina y reduce su conversión a piruvato, por lo que cabría esperar un incremento en los niveles de serina. Sorprendentemente, en el grupo de ratas gestantes suplementadas con glucosa, se observa solamente una tendencia a una reducción en la expresión de SDS respecto al grupo control (figura 15B), por lo que es posible que el equilibrio serina/piruvato estuviera más controlado en este caso.

Por último, se evaluó la expresión del gen SHMT1, que es la enzima responsable de convertir serina en glicina en el citoplasma de la célula, y también de aportar una unidad de carbono al ciclo de ácido fólico (28). Como puede verse en la figura 15C, su expresión aumenta significativamente en las ratas gestantes que han consumido fructosa y glucosa.

Estos datos implican una mayor interconversión de serina en glicina, lo que es de gran interés, ya que la glicina es un aminoácido indispensable para el correcto desarrollo del feto. De hecho, otros autores como Rivas-Ramírez et al. demostraron que la administración de glicina mejoró el desarrollo fetal y revirtió los efectos nocivos de la hiperglucemia en un modelo de embriopatía diabética (37).

Por otro lado, apoyando los efectos observados tras la ingesta de glucosa en el presente trabajo, Zhou et al. revelaron que el aumento en el consumo de glucosa activa la expresión de la enzima PHGDH, promoviendo así la síntesis de serina a partir de intermediarios glucolíticos (38). Sin embargo, no existen estudios, bajo nuestro conocimiento, que hayan evaluado previamente cómo el consumo de fructosa afecta a esta ruta metabólica.

Como hemos comentado en el apartado del metabolismo de la serina, la ruta de producción de serina funciona también como ruta anaplerótica, dado que permite la producción de α -cetoglutarato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, el cual se puede utilizar como precursor de múltiples compuestos, promoviendo así la proliferación celular y la biosíntesis de macromoléculas como triglicéridos y colesterol (36). Esto resulta de gran interés, ya que se ha observado que, en muchos procesos oncogénicos, el metabolismo alterado del α -KG conduce a hipermetilación del ADN y

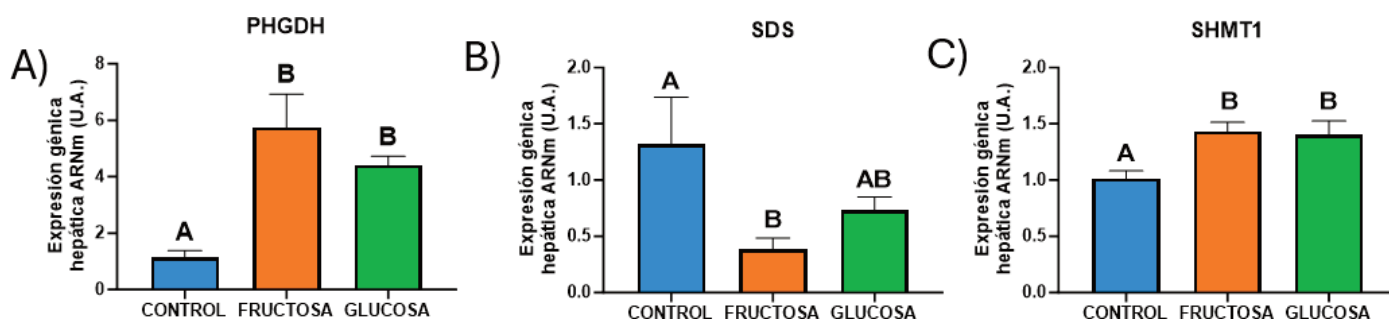


Figura 15. Expresión génica (ARNm) de las enzimas PHGDH (A), SDS (B), SHMT1 (C) en hígados de hembras gestantes descendientes de madres control (azul), madres-fructosa tras consumir durante 21 días agua con un 10% (p/v) de fructosa (naranja) y madres-glucosa con un 10% (p/v) de glucosa (verde). Los datos representan la media \pm E.S. de 5 ratas. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre hembras tratadas con diferente dieta.

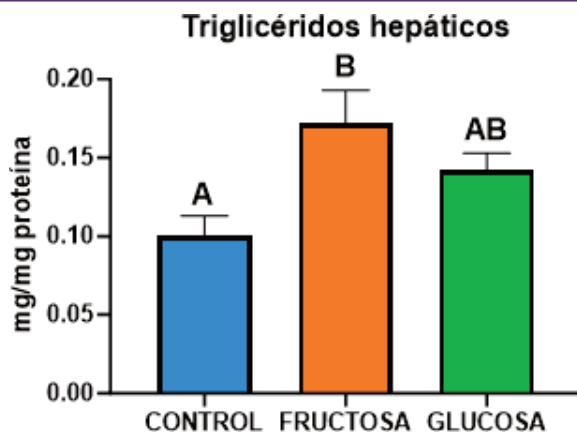


Figura 16. Niveles de triglicéridos hepáticos (mg/mg proteína) en hígados de hembras gestantes descendientes de madres control (azul), madres-fructosa tras consumir durante 21 días agua con un 10% (p/v) de fructosa (naranja) y madres-glucosa con un 10% (p/v) de glucosa (verde). Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre hembras tratadas con diferente dieta.

de histonas. Esto podría contribuir al silenciamiento de genes supresores de tumores, promoviendo así la progresión del tumor y la resistencia a tratamientos (39).

Acorde a los resultados anteriormente expuestos, observamos en la figura 16 cómo el consumo de fructosa aumenta significativamente los niveles de triglicéridos, siguiendo una tendencia muy similar a la observada en la expresión de la enzima PHGDH (Figura 15A). Por tanto, estos datos sugieren que la ingesta de fructosa durante la gestación induce una mayor producción de serina que se convierte en glicina, la cual, debido a su interconexión con la ruta del metabolismo de un carbono (28), estaría proporcionando más sustratos para la síntesis de macromoléculas.

5.2. Efecto de la reexposición a fructosa durante la gestación en descendientes de madres-fructosa (generación F1): metabolismo hepático y placentario y transporte de serina de la madre al feto.

Una vez evaluado cómo el consumo de fructosa durante la gestación conduce a modificaciones en la expresión génica de diferentes

genes implicados en la síntesis de serina, transformación en piruvato e interconversión en glicina (Figura 15), nos planteamos conocer si dichos cambios pudieran tener alguna repercusión a nivel de programación fetal en la descendencia hembra gestante.

5.2.1. Metabolismo de la serina en el hígado de gestantes de la generación F1

En primer lugar, se llevó a cabo un estudio de la expresión génica hepática de todos los genes involucrados en la síntesis de serina (Figura 17). Los datos obtenidos muestran un aumento en la expresión de la PHGDH en las descendientes F1 de madres expuestas a fructosa durante su gestación, que alcanza valores significativos en el grupo FF (Figura 17A). Estos datos sugieren un efecto de programación fetal, a través del cual la ingesta materna de fructosa induce en sus descendientes, una vez gestantes, la activación de la síntesis de serina. Sorprendentemente, este efecto se potencia cuando a las descendientes se les reexpone a fructosa durante su propia gestación (grupo FF).

En las otras dos enzimas de la ruta, la expresión de la PSAT1 (Figura 17B) no se ve alterada en los distintos grupos estudiados, y en la PSPH (Figura 17C) se observa una tendencia a una mayor expresión en los grupos FC y FF. Pese a que la expresión de la PSAT1 y la PSPH no cambie significativamente en los grupos FC y FF en comparación con el grupo control, al estar la PHGDH sobreexpresada, y siendo esta la enzima limitante de la ruta, sería lógico esperar que la concentración de serina se vea aumentada en el hígado de estos animales (29).

Por otro lado, se evaluó la transformación de serina en piruvato a través de la enzima SDS. Como puede verse en la Figura 18, la SDS muestra una tendencia a una menor expresión en los grupos de descendientes de madres-fructosa (FC y FF), siendo esta reducción más acusada en el grupo FF.

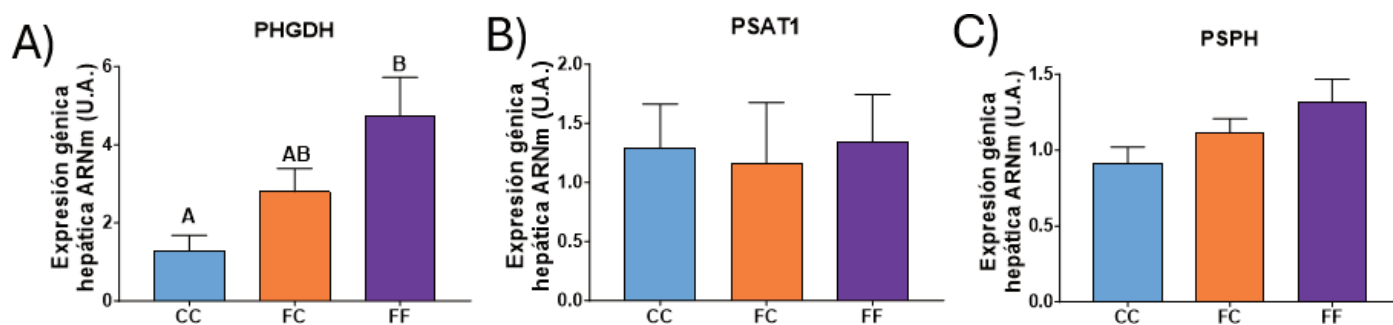


Figura 17. Expresión génica (ARNm) de las enzimas PHGDH (A), PSAT1 (B), PSPH (C) en hígados de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada). Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre hembras tratadas con diferente dieta.

Todos estos resultados podrían indicarnos un proceso de programación fetal a través del cual el consumo materno de fructosa promueve una mayor síntesis de serina en las descendientes hembra gestantes (Figura 17) y una posible mayor acumulación de esta en el hígado, ya que se observa una tendencia a una menor transformación de la serina en piruvato (Figura 18). Todos estos efectos se ven potenciados, al reexponer a fructosa a las gestantes

descendientes de madres-fructosa. Algunos autores han revelado cómo la hiperactivación de la biosíntesis de serina, impulsa el desarrollo del cáncer, además de elevar la producción de glutatión, que ayuda a mantener el equilibrio redox, favoreciendo así la homeostasis tumoral (40).

A continuación, se determinó la expresión génica de la SHMT1 y SHMT2, enzimas implicadas en la interconversión de serina en glicina. A diferencia de la SHMT1, la enzima SHMT2 cataliza la reacción en las mitocondrias (Figura 6) (28). Sorprendentemente, no se encontraron diferencias significativas en la expresión de las enzimas SHMT1 (Figura 19A) ni SHMT2 (Figura 19B) en los distintos grupos experimentales estudiados. Aunque en el presente trabajo no hemos podido determinar los niveles hepáticos de serina ni de glicina, al existir una sobreexpresión de la PHGDH, enzima clave en la síntesis de serina, cabría esperar unos mayores niveles de serina, que por una mayor disponibilidad de sustrato desplazaría la reacción hacia una mayor interconversión a glicina. Meléndez-Hevia y de Paz-Lugo demostraron que cada mol de serina convertido genera exactamente un mol de glicina, de modo que cualquier incremento en la concentración de serina se traduce en un aumento equimolar de glicina (41).

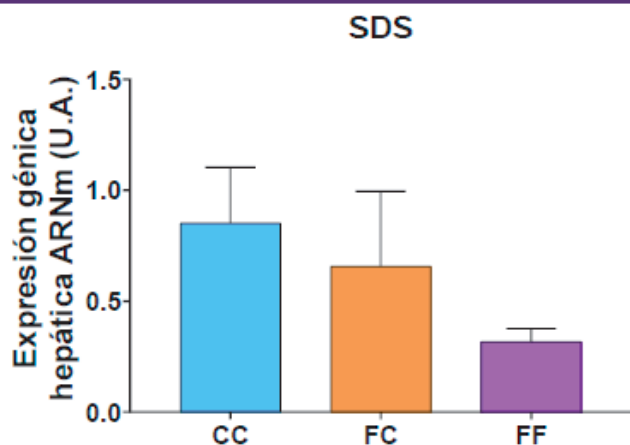


Figura 18. Expresión génica (ARNm) de la enzima SDS en hígados de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).

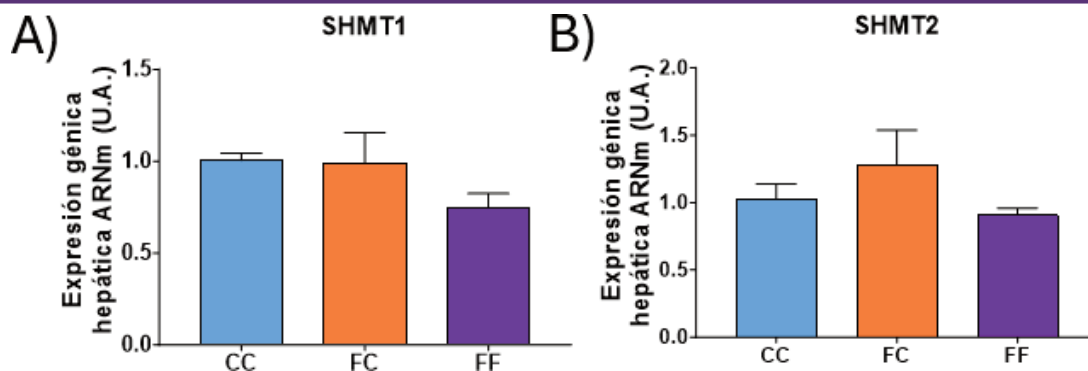


Figura 19. Expresión génica (ARNm) de las enzimas SHMT1 (A), SHMT2 (B) en hígados de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).

Como hemos mencionado en el apartado anterior, la SHMT1 y SHMT2 son un punto de conexión entre el metabolismo de la serina y el metabolismo de un carbono (Figura 6). La MTHFR y la MTHFD2 son las dos enzimas limitantes de esta ruta (38). La primera actúa en el citoplasma, y reduce el 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metil-tetrahidrofolato (5-Metil-THF). La segunda, actúa en la mitocondria, y cataliza la conversión de 5,10-metilen-THF a 10-formil-THF (28). Como se muestra en la figura 22 ambas enzimas presentan una tendencia muy similar. De esta manera, la MTHFD2 (Figura 20A) aumenta su expresión en las gestantes descendientes de madres-fructosa (FC y FF), llegando a ser este efecto significativo en el grupo FF. Además, esta misma tendencia, sin llegar a ser signifi-

cativa, aparece en la expresión de la MTHFR (Figura 20B). Sorprendentemente, el metabolismo de la síntesis de serina (Figura 17) y el metabolismo de un carbono (Figura 20) muestran unos cambios de expresión similares. De esta manera ambas rutas están activadas en aquellas descendientes cuyas madres han tomado fructosa durante la gestación. Estos datos refuerzan estudios previos en los cuales se indica la interconexión existente entre ambas rutas y la posible programación fetal asociada al consumo de fructosa (41,42). Como se ha explicado anteriormente, la activación de la síntesis de serina y, por consiguiente, del metabolismo de un carbono conduce a la producción de compuestos intermediarios que pueden ser utilizados en la síntesis de macromoléculas (28). De esta manera,

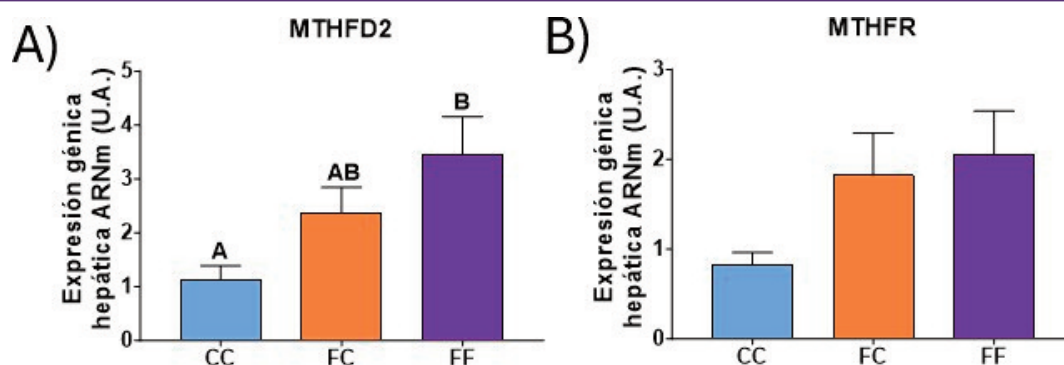


Figura 20. Expresión génica (ARNm) de las enzimas MTHFD2 (A), MTHFR (B) en hígados de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada). Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre hembras tratados con diferente dieta.

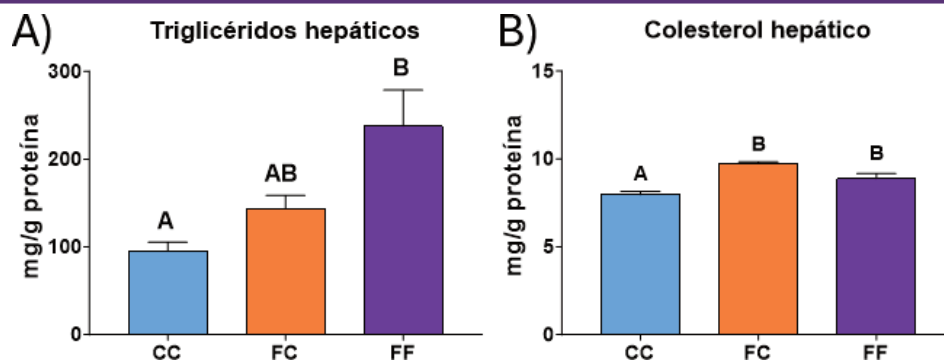


Figura 21. Niveles (mg/g proteína) de triglicéridos hepáticos (A) y colesterol hepático (B) en hígados de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada). Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre hembras tratados con diferente dieta (44).

la mayor síntesis de serina observada en el presente modelo experimental (Figura 17) unida a la activación del metabolismo de un carbono (Figura 20), puede ser una de las causas que explique que las descendientes de madres-fructosa contengan unos mayores niveles de triglicéridos y colesterol hepáticos (Figura 21).

5.2.2. Efecto del consumo de fructosa en el metabolismo de la serina en la placenta de las gestantes de la generación F1 y su transporte de la madre al feto

En primer lugar, se llevó a cabo un estudio de los genes del metabolismo de síntesis de la serina en la placenta, ya que estudios previos han demostrado que dicho órgano es capaz de

sintetizar serina (31). En las placentas, observamos que la expresión de las enzimas implicadas en la ruta de síntesis de serina no presentó diferencias significativas. Únicamente cabe destacar que en el grupo FC se observó una tendencia a una mayor expresión de la PHGDH (Figura 22A). Conviene mencionar que no pudo ser medida la expresión de PSAT1, ya que no era detectable por PCR a tiempo real en nuestro modelo experimental.

Tampoco se detectaron cambios significativos en la expresión de la SHMT1 ni SHMT2 (Figura 23) en ninguno de los grupos experimentales estudiados.

A continuación, se evaluaron las enzimas implicadas en el metabolismo de un carbono, y observamos en el grupo FF que la expresión de MTHFD2, (Figura 24) tiende a bajar y la de

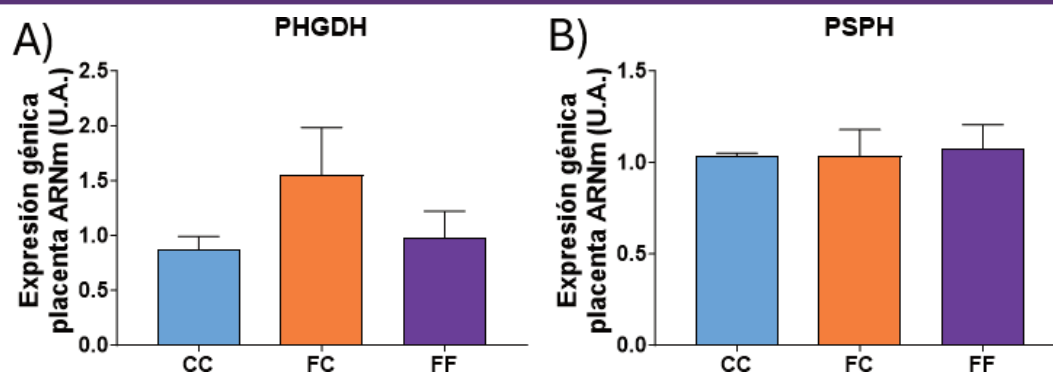


Figura 22. Expresión génica (ARNm) de las enzimas PHGDH (A) y PSPH (B) en placentas de hembras de 8 semanas de edad. Descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).

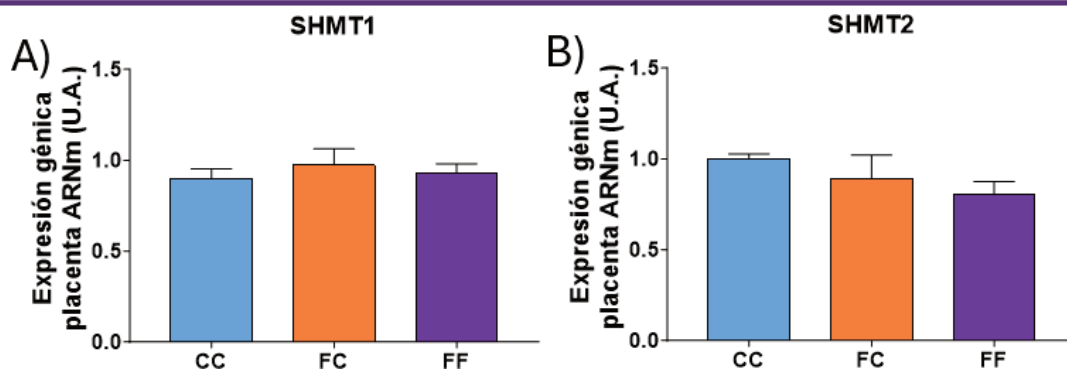


Figura 23. Expresión génica (ARNm) de las enzimas SHMT1 (A), SHMT2 (B), en placentas de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).

MTHFR disminuye significativamente. Estos resultados podrían ser un efecto compensatorio a la mayor expresión encontrada en los hígados de las gestantes (Figura 20).

Finalmente, y dadas las diferencias observadas en la expresión de las enzimas implicadas en la síntesis de serina en los hígados de las gestantes de la generación F1 (figura 17), nos planteamos estudiar si se producía algún cambio en la expresión de los transportadores placentarios específicos de la serina, ya que este aminoácido es capaz de pasar de la madre al feto (31).

Resultó llamativo que el consumo de fructosa durante la gestación no alteró la expresión de ninguno de los transportadores estudiados (Figura 25). A pesar de estos resultados, dado que se ha comprobado (Figura 17)

que la síntesis de serina esta más activa en los hígados de gestantes descendientes de madres-fructosa, es posible que los niveles de dicho aminoácido sean mayores en el plasma provocando un mayor flujo de serina de la madre al feto, sin necesidad de aumentar los niveles de los transportadores. Esta hipótesis estaría en concordancia con los trabajos descritos por diversos autores a través de un modelo computacional de la placenta, donde se ha visto que, aunque la expresión de ciertos transportadores disminuya, un mayor gradiente de concentración materna compensa esta reducción y aumenta el flujo neto de serina hacia el feto (43), lo que iría en consonancia también con los resultados del presente trabajo.

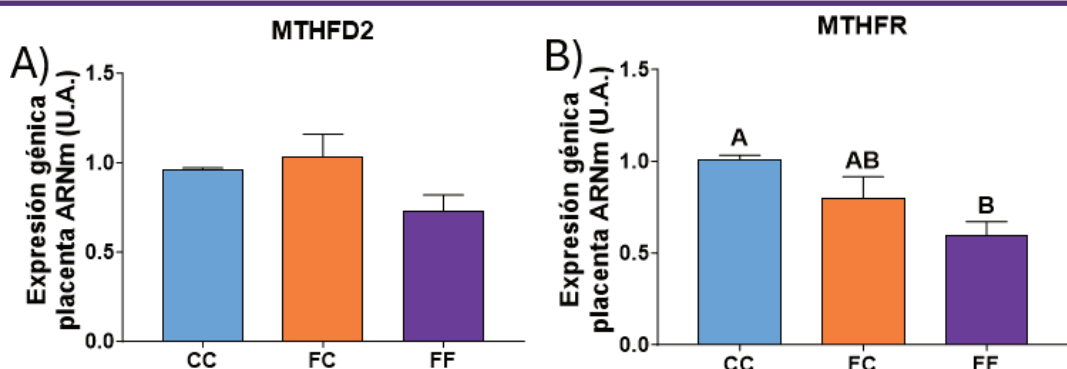


Figura 24. Expresión génica (ARNm) de las enzimas MTHFD2 (A) y MTHFR (B), en placentas de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada). Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre hembras tratados con diferente dieta.

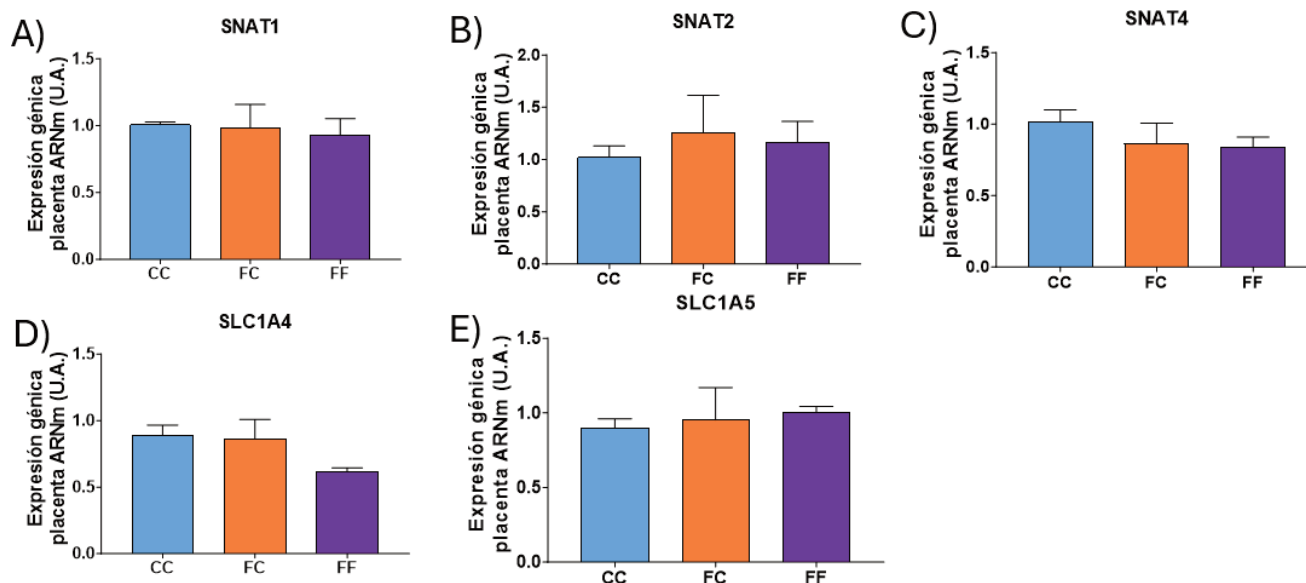


Figura 25. Expresión génica (ARNm) de los transportadores placentarios del sistema A, SNAT1 (A), SNAT2 (B), SNAT4 (C) y del sistema ASC, SLC1A4 (D), SLC1A5 (E) en placentas de hembras de 8 semanas de edad descendientes de madres-control (C) tras consumir agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).

5.2.3. Metabolismo de la serina en el hígado lo fetos (futura generación F2) de gestantes F1

En primer lugar, se estudió la expresión de las enzimas implicadas en el metabolismo de síntesis de serina en los hígados de los fetos. Como se muestra en la figura 26 no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las enzimas estudiadas (PHGDH, PSAT1 y PSPH,) aunque puede observarse una tendencia a una menor expresión en la PHGDH en el grupo FC (Figura 26A) y en la PSAT1 en el grupo

FF (Figura 26B)., En consecuencia, en los fetos se produce una tendencia contraria a la observada en sus madres lo que podría sugerir un mecanismo compensatorio, como se ha descrito anteriormente.

En cuanto a la interconversión de la serina en glicina por la SHMT1 y la SHMT2, de nuevo no aparecen diferencias significativas en ninguno de los grupos estudiados, pero sí hay una tendencia a una menor expresión de la SHMT1 en el grupo FF (Figura 27A) y una tendencia a un aumento de la SHMT2 en el grupo FC (Figura 27B).

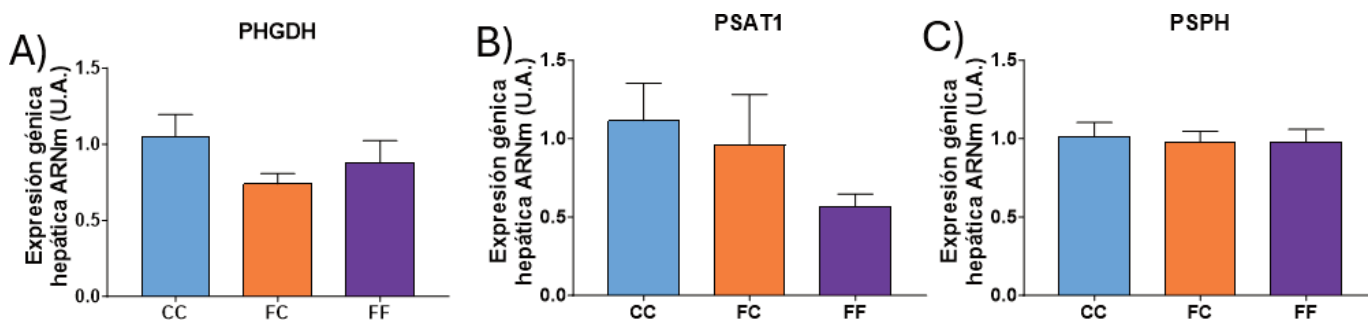


Figura 26. Expresión génica (ARNm) de las enzimas PHGDH(A), PSAT1(B) y PSPH(C) en hígados de fetos de hembras gestantes F1 descendientes de madres-control (C) tras consumir durante 21 días agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).

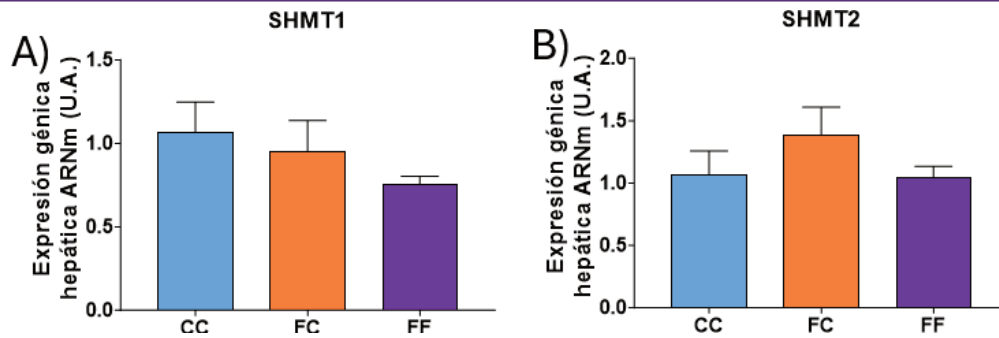


Figura 27. Expresión génica (ARNm) de las enzimas SHMT1(A) y SHMT2(B) en hígados de fetos de hembras gestantes F1 descendientes de madres-control (C) tras consumir durante 21 días agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).

Finalmente, en el caso del metabolismo de un carbono, tampoco encontramos diferencias significativas en los grupos de fetos estudiados (Figura 28). No obstante, merece la pena destacar que la expresión de la MTHFR tiende a bajar su expresión en los fetos de gestantes (Figura 28B). Estos resultados observados en el grupo FF, son similares a lo que ocurre en las placentas (Figura 24B), y opuestos a lo que se ha visto en los hígados de las gestantes (Figura 19B).

Como hemos podido comprobar en los resultados, la expresión génica de los genes del metabolismo de síntesis de serina (Figura 26) y del metabolismo de un carbono (Figura 28) en los hígados de los fetos procedentes de las gestantes F1 tiende a bajar, siguiendo una tendencia opuesta al de sus madres, las gestantes F1 (Figura 17 y 20), lo que sugiere que los fetos

podrían estar intentando compensar ese exceso de serina y compuestos intermediarios producidos por sus madres.

Estos hallazgos, concuerdan con los resultados descritos por Rodríguez et al. Las madres que consumieron fructosa durante la gestación mostraron una activación de la lipogénesis hepática, reflejada en el incremento de la expresión de SREBP-1c, FAS y ACC, y una consiguiente acumulación de triglicéridos y colesterol en el hígado. Por el contrario, se observó una tendencia opuesta en los hígados de los fetos. La expresión de SREBP-1c, FAS y ACC disminuyó. Esto sugiere un efecto compensatorio de programación fetal, que frena la síntesis de lípidos y favorece su degradación para evitar la acumulación excesiva de grasa en el tejido fetal (45).

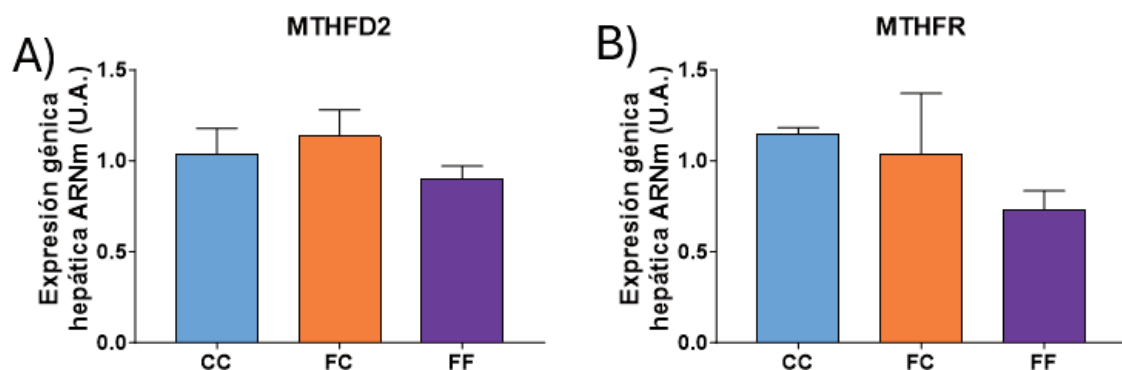


Figura 28. Expresión génica (ARNm) de las enzimas MTHFD2(A) y MTHFR(B) en hígados de fetos de hembras gestantes F1 descendientes de madres-control (C) tras consumir durante 21 días agua sin aditivos durante su gestación (CC, barra azul), y hembras descendientes de madres-fructosa (F), tras consumir agua sin aditivo (FC, barra naranja) y agua con un 10% (p/v) de fructosa (FF, barra morada).



6. CONCLUSIONES

A partir de los resultados expuestos a lo largo del presente trabajo podemos extraer las siguientes conclusiones:

- El consumo de fructosa durante la gestación activa la ruta metabólica de la síntesis de serina y su conversión a glicina, la cual conecta con el metabolismo de un carbono. Todo ello favorecería la producción de precursores para la síntesis de macromoléculas, tales como los triglicéridos.
- El consumo materno de fructosa conduce en sus descendientes, una vez gestantes, a la activación de la ruta de síntesis de la serina, así como la del metabolismo de un carbono. Estos datos evidencian un claro mecanismo de programación fetal.
- La reexposición a fructosa durante la gestación conduce en los descendientes de madres-fructosa a una mayor activación de ambas rutas metabólicas.
- No se han obtenido resultados concluyentes que demuestren que el consumo de fructosa afecte al transporte de serina a través de la placenta hacia el feto, ya que no se han observado diferencias significativas en la expresión de los transportadores involucrados.
- Se observó una tendencia a la reducción en la expresión de los genes de la ruta de síntesis de serina y del metabolismo de un carbono en las placentas y los hígados de los fetos procedentes de las ratas gestantes que a su vez son descendientes de madres-fructosa y fueron suplementadas con fructosa durante su propia gestación. Dicho efecto es opuesto al observado en la expresión de los mismos genes en sus madres, lo que sugiere un efecto compensatorio.

Abreviaturas

3PG: 3-fosfoglicerato

3-PHP: 3-fosfohidroxipiruvato_{5,10}-CH₂-THF:

5,10-metilntetrahidrolato 5-CH₃-THF: 5-metil-tetrahidrolato

ABCG5: ATP Binding Cassette Subfamily G Member 5

ADNc: ADN complementario

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADP: Adenosín difosfato

KG: Alfa-cetoglutarato

AMP: Adenosín monofosfato

AMPD: AMP desaminasa

ANOVA: Análisis unidireccional de la varianza

ARN: Ácido ribonucleico

ARNcirc: ARN circulares

ARNlnc: ARN no codificantes largos

ARNm: ARN mensajero

ARNnc: ARN no codificante

ASC: Transportadores alanina-serina-cisteína

ATP: Adenosín trifosfato

ChREBP: Proteína de unión al elemento respuesta de carbohidratos (*Carbohydrate Responsive-Element Binding Protein*)

CoA: Coenzima A

Cp: Ciclo umbral

CYP7A1: Colesterol 7-alfa hidroxilasa (citocromo p450 tipo 7 A1)

DNMT: ADN metiltransferasas

DTT: Ditiotreitolo ENT: Enfermedades no transmisibles

HAT: Histonas acetiltransferasas

HDAC: Histonas deacetilasas

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

HFCS: Jarabe de maíz rico en fructosa (*High-Fructose Corn syrup*)

IMP: Inosina monofosfato

KHK: Cetohecoquinasa

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

LXRa: Receptor X hepático alfa

miARN: Micro-ácido ribonucleicos

mTOR: Diana de rapamicina en mamíferos (*mammalian target of Rapamycin*)

MTHFD2: Metilentetrahidrolato deshidrogenasa 2

MTHFR: Metilentetrahidrolato reductasa

MVM: Microvellosidades

NAD⁺: Dinucleótido de nicotinamida y adenina (oxidado)

NADH: Dinucleótido de nicotinamida y adenina (reducido)

NAFLD: Enfermedad del hígado graso no alcohólico



PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
 PHGDH: 3-fosfoglicerato deshidrogenasa
 PPARα: Receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (*Peroxisome proliferator-activated receptor alpha*)
 PSAT1: 3-fosfoserina aminotransferasa
 PSPH: Fosfoserina fosfatasa
 RCIU: Restricción del crecimiento intrauterino
 SAM: S-adenosilmetionina
 SDS: Serina deshidratasa
 SHMT: Serina hidroximetiltransferasa
 SLGT1: Cotransportador de sodio-glucosa 1 (*sodium-glucose linked transporter*)
 SNAT: Transportadores de aminoácidos neutros acoplados a sodio (*sodium-coupled neutral amino acid transporters*)
 SR-B1: Receptor *Scavenger* clase B tipo 1 (*Scavenger receptor class B type 1*)
 SREBP-1c: Proteína de unión al elemento respuesta de esteroides tipo 1c (*Sterol response element binding protein 1c*)
 THF: Tetrahidrofolato
 VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

4. REFERENCIAS

- Agarwal V, Das S, Kapoor N, Prusty B, Das B. Dietary Fructose: A Literature Review of Current Evidence and Implications on Metabolic Health. *Cureus*. 2022.
- Faruque S, Tong J, Lacmanovic V, Agbonghae C, Minaya DM, Czaja K. The Dose Makes the Poison: Sugar and Obesity in the United States - a Review. *Pol J Food Nutr Sci*. 2019;69(3):219-233.
- Herman MA, Birnbaum MJ. Molecular Aspects of Fructose Metabolism and Metabolic Disease. *Cell Metab*. 2020;32(3):383-396.
- Taskinen MR, Packard CJ, Borén J. Dietary Fructose and the Metabolic Syndrome. *Nutrients*. 2019;11(9):1987.
- Cena H, Calder PC. Defining a Healthy Diet: Evidence for The Role of Contemporary Dietary Patterns in Health and Disease. *Nutrients*. 2020;12(2):334.
- Merino B, Fernández-Díaz CM, Cózar-Castellano I, Perdomo G. Intestinal Fructose and Glucose Metabolism in Health and Disease. *Nutrients*. 2019;12(1):94.
- Hannou SA, Haslam DE, McKeown NM, Herman MA. Fructose metabolism and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2018;128(2):545-555.
- Basciano H, Federico L, Adeli K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab (Lond)*. 2005;2(1):5.
- Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature*. 2007;447(7143):396-8.
- Allis CD, Jenuwein T. The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nat Rev Genet*. 2016;17(8):487-500.
- Wu YL, Lin ZJ, Li CC, Wu Y, Zhang B, Li C, et al. Epigenetic regulation in metabolic diseases: mechanisms and advances in clinical study. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8:98.
- Ling C, Rönn T. Epigenetics in human obesity and type 2 diabetes. *Cell Metab*. 2019;29(5):1028-44.
- Marciniak A, Patro-Małyśza J, Kimber-Trojnar Ż, Marciniak B, Oleszczuk J, Leszczyńska-Gorzela B. Fetal programming of the metabolic syndrome. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2017;56(2):133-138.
- Rodríguez L, Otero P, Panadero MI, Alvarez-Millán JJ, Nimo-Rojas N, Roglans N, et al. Maternal fructose intake induces insulin resistance and oxidative stress in male, but not female, offspring. *J Nutr Metab*. 2015;2015:158091.
- Rodrigo S, Fauste E, de la Cuesta M, Panadero MI, Otero P, Rodríguez L, et al. Maternal fructose induces gender-dependent changes in both LXRα promoter methylation and cholesterol metabolism in progeny. *J Nutr Biochem*. 2018;61:163-172.
- Fisiopatología de la programación fetal y su repercusión en la salud futura (Internet). *Ginec Obstet Mex*; 2023 (citado 20 jun 2025). Disponible en: (https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0300-90412023000800588).
- Zhu Z, Cao F, Li X. Epigenetic programming and fetal metabolic programming. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:764.
- Lim DH, Maher ER. Genomic imprinting syndromes and cancer. *Adv Genet*. 2010;70:145-75.
- Unger JM, Vaidya R, Hershman DL, Minasian LM, Fleury ME. Systematic Review and Meta-Analysis of the Magnitude of Structural, Clinical, and Physician and Patient Barriers to Cancer Clinical Trial Participation. *J Natl Cancer Inst*. 2019;111(3):245-255.



20. Gujral P, Mahajan V, Lissaman AC, Ponnampalam AP. Histone acetylation and the role of histone deacetylases in normal cyclic endometrium. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):84.
21. Statello L, Guo CJ, Chen LL, Huarte M. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021;22(2):96-118.
22. Yang K, Zeng L, Ge A, Wang S, Zeng J, Yuan X, et al. A systematic review of the research progress of non-coding RNA in neuroinflammation and immune regulation in cerebral infarction/ischemia-reperfusion injury. *Front Immunol.* 2022;13:930171.
23. Kristensen LS, Andersen MS, Stagsted LVW, Ebbesen KK, Hansen TB, Kjems J. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. *Nat Rev Genet.* 2019;20(11):675-91.
24. Asghar ZA, Thompson A, Chi M, Cusumano A, Scheaffer S, Al-Hammadi N, et al. Maternal fructose drives placental uric acid production leading to adverse fetal outcomes. *Sci Rep.* 2016;6:25091.
25. Rodrigo S, Rodríguez L, Otero P, Panadero MI, García A, Barbas C, et al. Fructose during pregnancy provokes fetal oxidative stress: The key role of the placental heme oxygenase-1. *Mol Nutr Food Res.* 2016;60(12):2700-11.
26. Liu S, Zhang H, Yan B, Zhao H, Wang Y, Gao T, et al. Maternal high-fructose consumption provokes placental oxidative stress resulting in asymmetrical fetal growth restriction in rats. *J Clin Biochem Nutr.* 2021;69(1):68-76.
27. Rodríguez L, Panadero MI, Roglans N, Otero P, Alvarez-Millán JJ, Laguna JC, et al. Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. *J Nutr Biochem.* 2013;24(10):1709-16.
28. Lee CM, Hwang Y, Kim M, Park YC, Kim H, Fang S. PHGDH: a novel therapeutic target in cancer. *Exp Mol Med.* 2024;56:1513-22.
29. Holeček M. Serine metabolism in health and disease and as a conditionally essential amino acid. *Nutrients.* 2022;14(9):1987.
30. Li P, Wu X, Huang Y, Qin R, Xiong P, Qiu Y. L-serine metabolic regulation and host respiratory homeostasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2025;15:1518659.
31. Cleal JK, Lewis RM. The mechanisms and regulation of placental amino acid transport to the human foetus. *J Neuroendocrinol.* 2008;20(4):419-426.
32. Glazier JD, Cetin I, Perugino G, Ronzoni S, Grey AM, Mahendran D, et al. Association between the activity of the system A amino acid transporter in the microvillous plasma membrane of the placenta and birth weight in human pregnancy. *J Clin Invest.* 1997;100(6):1424-33.
33. Jansson T, Powell TL. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clin Sci (Lond).* 2007;113(1):1-13.
34. Huggett J, Dheda K, Bustin S, Zumla A. Real-time RT-PCR normalization; strategies and considerations. *Genes Immun.* 2005;6(4):279-84.
35. Ruijter JM, Ramakers C, Hoogaars WM, Hube F, Smeele K, Vulto I, et al. Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(6):e45.
36. Nelson DL, Lehninger AL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry.* 5th ed. New York: W.H. Freeman; 2008.
37. Rivas-Ramírez L, Chirino G, Rivas-Farías A, Palomar-Morales M. El efecto embrioprotector de la glicina en un modelo de embriopatía diabética. *Rev Bio Ciencias.* 2025;12:e1730.
38. Zhou J, Li X, Wang Y, Zhang C, Liu Y, Wang N, et al. High glucose induces PHGDH expression to drive serine synthesis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Metab.* 2022;10:11.
39. Xu W, Yang H, Liu Y, He F, Li Z, Wang J, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell.* 2011;19(1):17-30.
40. Amelio I, Cutruzzolá F, Antonov A, Agostini M, Melino G. Serine and glycine metabolism in cancer. *Trends Biochem Sci.* 2014;39(4):191-8.
41. Meléndez-Hevia E, de Paz-Lugo P. Branch-point stoichiometry can generate weak links in metabolism: the case of glycine biosynthesis. *J Biosci.* 2008;33:771-780.
42. Locasale JW. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle. *Nat Rev Cancer.* 2013;13(8):572-83.



43. Sengers BG, Please CP, Lewis RM. Computational modelling of amino acid transfer interactions in the placenta. *Placenta*. 2010;31(7):556-64.
44. Fauste E, Panadero MI, Donis C, Otero P, Bocos C. Pregnancy is enough to provoke deleterious effects in descendants of fructose-fed mothers and their fetuses. *Nutrients*. 2021;13(10):3667.
45. Rodríguez A, Panadero MI, Roglans N, Otero P, Álvarez-Millán JJ, Barroso E, et al. Maternal fructose consumption during gestation alters hepatic lipid metabolism and gene expression in rat fetuses. *J Nutr Biochem*. 2013;24(6):1057-1066.

Si desea citar nuestro artículo:

Efecto del consumo de fructosa en el metabolismo de la serina. estudio experimental en un modelo murino sprague-dawley

Fermín Margallo Remón, Madelín Pérez-Armas, Maribel Panadero Antón, Elena Fauste Alonso, Paola Otero Gómez, Carlos Bocos de PradaAn Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 92. nº 2 (2026) · pp. 127-157
DOI:<http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.01.02>



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Quimiometría e Inteligencia Artificial: Encuentros en la primera fase
Chemometrics and Artificial Intelligence: Encounters of the first kind

Agustín García Asuero, FRSC

Académico de número de la Real Academia Nacional de Farmacia de España

e-mail: asuero@us.es

Recibido el 3 de febrero de 2026; aceptado el 15 de febrero de 2026

Disponible en internet el 30 de junio de 2026

PALABRAS CLAVEQuimiometría
Química analítica
Historia
Inteligencia
artificial
Aplicaciones**RESUMEN**

En este trabajo de revisión, que tiene su punto de partida un capítulo (sección) de la obra “Química y Medida” del autor, y en un par de conferencias previas por él impartidas, se hacen algunas consideraciones en torno a los orígenes de la quimiometría y a su introducción como una nueva disciplina bajo el paraguas de la química analítica. Se advierte la conexión estadística a la quimiometría en el concurso previo de investigadores con formación química (y analítica) que derivaron hacia la estadística. El matrimonio de conveniencia o no entre las matemáticas aplicadas y la química analítica se traduce en la puesta a punto de estrategias quimiométricas tales como el tratamiento de datos, la optimización, el uso de modelos, y el reconocimiento de patrones. Se presta atención al origen de la palabra quimiometría y a la sinergia de la quimiometría con la inteligencia artificial aludiendo a los encuentros en la primera fase a finales de los años 60 y 70, y al recorrido desde el análisis univariante al multivariante y a los *big data* (datos masivos). El reconocimiento de patrones y las redes neuronales son objeto de cierta atención. Por último, se insiste en el posible desencuentro que podría surgir entre la química analítica y la quimiometría, relación que se está poniendo a prueba, dada la cantidad de problemas complejos a afrontar (e.g. control multivariante estadístico de procesos, análisis de imagen, biología), la instrumentación cada vez más sofisticada y el incremento espectacular de los datos masivos que requieren una gran capacidad de cómputo. Urge una solución para este tsunami, que se halla en el uso de algoritmos avanzados como la inteligencia artificial, el aprendizaje profundo, las redes neuronales, el aprendizaje automático y otras herramientas matemáticas e informáticas aplicadas a la comprensión de los datos químicos. Se pasa revista también de forma somera a aplicaciones de diversa índole. La quimiometría muestra un papel relevante en el descubrimiento de fármacos.

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto

**KEYWORDS**

Chemometrics
Analytical chemistry
History
Artificial intelligence
Applications

ABSTRACT

This review, which draws on a chapter (section) from the author's book "Chemistry and Measurement" and a couple of his previous lectures, considers the origins of chemometrics and its introduction as a new discipline within analytical chemistry. It highlights the statistical connection to chemometrics in the earlier collaboration of researchers with chemical (and analytical) backgrounds who transitioned to statistics. The marriage of convenience, or perhaps not, between applied mathematics and statistics and analytical chemistry has led to the development of chemometric strategies such as data processing, optimization and modeling, and pattern recognition. Attention is paid to the origin of the term "chemometrics" and the synergy between chemometrics and artificial intelligence, alluding to the initial encounters in the late 1960s and 70s. The review also traces the evolution from univariate to multivariate analysis and to Big Data. Pattern recognition and neural networks are given some attention. Finally, the potential disconnect between analytical chemistry and chemometrics is emphasized, a relationship currently being tested given the number of complex problems to be addressed (e.g., multivariate statistical process control, image analysis, biology...), the increasingly sophisticated instrumentation, and the dramatic increase in massive datasets requiring significant computing power. A solution to this "tsunami" is urgently needed, and it lies in the use of advanced algorithms such as artificial intelligence, deep learning, neural networks, machine learning, and other mathematical and computational tools applied to understanding chemical data. A brief overview of various applications is also provided. Chemometrics plays a significant role in drug discovery.

1. INTRODUCCIÓN

Esta revisión tiene como punto de partida la obra Química y Medida (2022), de la que soy autor (1) y las conferencias sobre el particular impartidas en la Academia de Ciencias Farmacéuticas de Paraguay (agosto de 2024) y la Academia Nacional de Ciencias Farmacéuticas de México (septiembre de 2025). Con carácter previo a los años 70, el químico analítico estaba habituado, en general, solo con los procesos de medida. A partir de 1970, dada la irrupción de los ordenadores personales, la matemática y estadística avanzada se abren camino (2) poco a poco con el objeto de introducir mejoras en los procesos de medidas y contribuir a diseñar las experiencias de forma más apropiada. La pretensión, entonces y ahora, es realizar un uso óptimo de las mediciones analíticas con la finalidad de obtener información que sirva a solventar problemas

de variadas índoles: tecnológica (3), clínica (4), bromatológica (análisis, autenticación y calidad de alimentos...) (5), farmacéutica (6), medioambiental (7), óhmica (8), de patrimonio cultural (9), química verde (10) economía circular (11), etc.

La adecuación de los métodos analíticos a la solución de problemas concretos supone la cuantificación de diversas variables tales como sensores (12), modalidades de calibración (13), composiciones de las fases móvil y estacionaria, parámetros indicadores de instrumentación, etc. Las medidas llevadas a cabo en el laboratorio analítico llevan asociadas cierta incertidumbre, obteniéndose el resultado final analítico a partir de una fórmula matemática, por lo que para Bruce R. Kowalski (1942-2012), químico analítico (2, 14), Fig. 1 (izq.), fundador del "Centro de Química Analítica de Procesos de la Universidad de Washington en Seattle (WA)" resulta difícil



imaginar un matrimonio más perfecto que el del químico analítico y las matemáticas y estadística aplicadas. Es por lo que esta situación conlleva a la introducción de la palabra quimiometría (chemometrics) (14) para precisar las aplicaciones de los métodos matemáticos y estadísticos a las medidas químicas.

Alejandro Cesar Olivieri (1958-), profesor de química analítica en la Universidad Nacional del Rosario (Argentina) titula en cambio su reciente discurso de entrada, año 2020, en la Academia Nacional de Ciencias de Argentina: “Quimiometría: un matrimonio de conveniencia entre química y matemática”, discurso en el que contempla (15) el orden de la instrumentación analítica, cero, uno, dos... y los tipos de calibración: univariante, multivariante y multi-modo, indicando limitaciones y ventajas, planteando al final el tema del aumento “in crescendo” del orden de la instrumentación en clave dicotómica: revolución o evolución. Los datos, e.g. cromatográficos “multi-modo” (16), pueden tratarse según sean lineales o no lineales, mediante los algoritmos tales como el método de mínimos cuadrados parciales (PLS, partial least squares), análisis de factores paralelos (PARAFAC, PARA-

llel Factor Analysis) o resolución de curvas multivariadas mediante mínimos cuadrados alternos (MCR-ALS, multivariate curve resolution/alternating least squares), pudiendo citar como actores principales representativos del uso de estos métodos a Svante Bjarne Wold (1941-2022), Fig. 1 (dcha.), sueco, catedrático de Química Orgánica en la Universidad de Upsala, Rasmus Bro (1965-), danés, de la Universidad de Copenhague, investigador de los aspectos del aprendizaje automático y la inteligencia artificial en el ámbito de la química analítica (quimiometría), director de un consorcio de investigación industrial, ODIN, centrado en la Tecnología Analítica de Procesos (TAP), y Romà Tauler (1955-), natural de Barcelona (España), Profesor de investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en el Instituto de Evaluación Ambiental e Investigación del Agua. La complejidad de los datos “in crescendo” generado por la instrumentación analítica se aprecia en el “abstract” gráfico (17) de un trabajo reciente de 2024 realizado en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Oporto (Portugal).

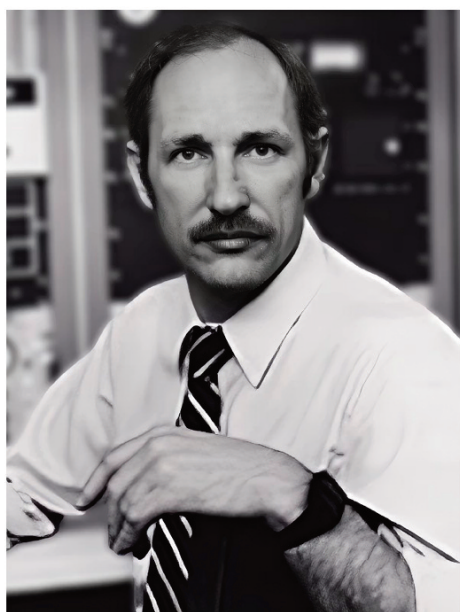


Figura 1. Bruce R. Kowalski (1942-2012), izq., y Svante Bjarne Wold (1941-2022), dcha. (1, 14).



Vamos a mencionar algunos actores, químicos, que representan el lado estadístico (18) de la quimiometría, en su preludio. William Sealy Gosset (1876-1937), estudia química y matemática en el “New College” de Oxford, trabaja como químico en la industria cervecera Guinness en Dublín, donde idea el “test t” bajo el seudónimo de Student. William John Youden (1900-1971), químico analítico (19) americano, australiano de cuna, ejerce entre 1948 y 1965 en la “Oficina Nacional de Estándares” (NBS), actualmente “Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST)” de los EE.UU, donde se transforma en químico estadístico aplicado. George Edward Pelham Box (1919-2013), británico, abandona sus estudios de química en 1939 para ingresar en el ejército británico con motivo de la guerra, llegando a ser más adelante Profesor de Estadística de la Universidad de Wisconsin, Madison (WI). John Wilder Tukey (1915-2000), graduado en química por la Universidad de Brown, Providence (R.I.), es profesor de la Universidad de Princeton (N.J.). Frank Wilcoxon (1892-1965), natural de Cork (Irlanda), de padres estadounidenses, consigue su maestría en química en la Universidad de Rutgers en Nuevo Brunswick (N.J.), y su doctorado en química-física por la Universidad de Cornell (NY), siendo investigador en el “Instituto Boyce Thompson para la investigación de plantas”, en las compañías “Atlas Powder” y “Cyanamid Americana”. John Mandel (1914-2007), belga, es químico por la Universidad Libre de Bruselas y miembro del staff de la NBS desde 1947 hasta su retiro en 1990. Estos químicos mencionados orientan su actividad hacia las aplicaciones de la estadística y muy bien podrían haberse denominado “quimiométras” (chemometricians) con carácter previo a que se ideara el término. Youden y Box, e.g. publicaron en “Analytical Chemistry” (1948) y “The Analyst” (1952) dos excelentes trabajos sobre el diseño experimental (20), adelantados a su época, aunque han resultado ser escasamente citados.

2. ESTRATEGIAS QUIMIOMÉTRICAS

Las tres principales estrategias quimiométricas se muestran en un trabajo (21) procedente del Departamento de Farmacia de la Universidad Federico II de Nápoles (Italia): el tratamiento estadístico de los datos, la optimización y el uso de modelos, y el reconocimiento de patrones. Sara Tortorella, la coautora, trabaja ahora en la Molecular Horizon, una *Startup* de Perugia. De cara a la obtención y al tratamiento de las señales obtenidas en el curso de las reacciones es preciso conocer las técnicas matemáticas mediante las cuales la información analítica (22) se transforma en información química, como ha mostrado Bernard G. M. Vandeginste (1943-), que obtiene su maestría en química en la Universidad Técnica de Delft y el doctorado en Ciencias en la Universidad de Radboud en Nimega (Países Bajos). De 1994 a 2004, presidió ChemoAC, un consorcio industrial liderado por el Prof. Desiré Luc Massart (1941-2015) farmacéutico, Director del Instituto Farmacéutico de la Universidad Libre de Bruselas (23), con quien coescribió los llamados “Libros Azules” (24). Tras su retiro profesional Vandeginste ha publicado dos obras “Historia de los oratorianos” (De Oratorianen, 2019) y “Esplendor y caída de los papas de Aviñon” (Grandeur en Val van de Pausen van Aviñon, 2021).

El trabajo de prolongación de los sentidos humanos (dispositivos/ aparatos/ instrumentos) se encuentra limitado por diferentes factores por lo que resulta imposible detectar la verdad única. Factores objetivos o subjetivos (25), expresados en términos especiales tales como errores aleatorios o sistemáticos ejercen influencia sobre los parámetros que caracterizan un método analítico: sensibilidad, selectividad, límite de detección y de determinación y sobre los principales factores que determinan el verdadero contenido, exactitud y precisión. Esto es por lo que, en Química Analítica, la verdad tiene una naturaleza estadística y una cierta probabilidad.



La estrategia quimiométrica en Química Analítica implica el diseño de modelos estadísticos para su aplicación a procedimientos analíticos. La meta final es la optimización del procedimiento, o la determinación de la influencia final de los diferentes factores de entrada sobre la señal analítica. Esta estrategia considera factores que no son siempre ordenados y autónomos y parámetros instrumentales (25). Los modelos ayudan al conocimiento de relaciones estructurales existentes objetivamente en un sistema analítico: influencia de interferencias, importancia de factores instrumentales e interconexiones entre parámetros de desempeño como exactitud, precisión, selectividad, sensibilidad y límite de detección.

Otro aspecto de la estrategia quimiométrica consiste en el estudio de sistemas no estructurados caracterizados por una vasta serie de datos (25). La ciencia hoy día abarca además del abordaje de los sistemas que están bien organizados, la de los sistemas difusos, no bien organizados. El trabajo con disoluciones puras o con muestras bien conocidas forma parte del pasado. La Química Analítica del medio ambiente, el teleanálisis y el análisis de sistemas biológicos trata con sistemas bastante difusos para los cuales las razones para una cierta composición cualitativa y cuantitativa no se encuentran delimitadas de una forma evidente. En adición, los métodos instrumentales actualmente disponibles proporcionan una oleada continuada de datos de dichas muestras.

Los métodos de reconocimiento de patrones sirven para la explicación de conjuntos amplios de datos analíticos, así como para la detección de los factores que determinan la distribución de los mismos (26): máquina lineal, métodos supervisados y no supervisados, análisis “cluster” y análisis factorial. Constituyen un subconjunto de la inteligencia artificial como aparece recogido al inicio del “abstracts” de los trabajos de Charles F. Bender (1940-2007) y Kowalski, de 1972 y 1973. Aunque pueda parecer que el vocablo inteligencia artificial haya emergido más recientemente, estamos asistiendo (27) prácticamente, a su septuagésimo aniversario.

3. DEL ORIGEN DE LA PALABRA Y LOS TRABAJOS SEMINALES DE KOWALSKI

A pesar de lo expuesto, la Quimiometría no es la primera disciplina que se conjuga con las matemáticas y estadística. Si se utiliza la aparición de una revista prestigiosa como medida de la edad, le precede la Biometría. La revista *Biometrika* (28) ve la luz en 1901. En 1936 aparece *Psychometrika*. “Technometric” se publica por primera vez en 1951, bajo la dirección de J Stuart (Stu) Hunter (1923-), ingeniero matemático que se doctora en Estadística en la Universidad de Carolina del Norte en 1954, posteriormente profesor de la Universidad de Princeton (NJ). Herramientas ampliamente utilizadas en quimiometría como el análisis por componentes principales (PCA) tienen origen en el campo de la biometría, con el trabajo de Karl Pearson (1857-1936), profesor de la Universidad de Londres (Reino Unido) en 1901, y de la economía con los de Harold Hotelling (1895-1973), profesor de las Universidades de Stanford en San Francisco (CA), Columbia en Nueva York y Carolina del Norte en Chape Hill (NC), que introduce su estadístico “ T^2 ” en el control multivariante de la calidad. Herman Ole Andreas Wold (1908-1992), noruego, profesor de la Universidad de Upsala (14), casado con Anna-Lisa (1914-1994), matemática sueca, la más pequeña de las hijas de Svante August Arrhenius (1859-1927) (Premio Nobel de Química en 1903), padre de Svante Wold (1941-2022), hizo una importante contribución con su trabajo pionero sobre el método de mínimos cuadrados parciales (PLS) para el modelado y la regresión generalizados. En 1964 ideó su famoso algoritmo NIPALS (Nonlinear estimation by iterative partial least squares) para el cálculo iterativo uno por uno de los componentes principales, base del PLS (29). La palabra sueca “kemometri” fue usada en primer lugar por Wold hijo, un joven profesor de la Universidad de Umea (Suecia), a fines de 1971 (tenía entonces 30 años), en la



solicitud de un proyecto de investigación y en un curso ofertado por dicha universidad, y un año más tarde (1972) en un artículo publicado en la Revista de la Sociedad Sueca de Química (30), primero, escasamente citado (39 citas al día de hoy) y en *Technometric* dos años después (*Spline function in data analysis*), citado con mayor profusión (612 citas). Desde entonces, el nuevo término se ha abierto hueco en los nombres de conceptos químicos y es ampliamente usado por grupos de investigación y en reuniones científicas, revistas y disciplinas diversas.

A principios de los 70 Kowalski y Bender, químico computacional, miembros entonces del Laboratorio Livermore de la Universidad de California, publican en el “*Journal of the American Chemical Society*” un par de trabajos (26) sobre el reconocimiento de patrones analizando datos químicos multidimensionales mediante métodos matemáticos y estadísticos, con el uso del computador. En el “abstract” de dichos trabajos se indica “el reconocimiento de patrones es una nueva rama en desarrollo de la inteligencia artificial con un gran potencial para la solución de problemas químicos en el ámbito del análisis de datos”. Wold comenta (14): “Leí y releí y releí los dos artículos sobre reconocimiento de patrones”, que “eran una revelación”, ya que “de repente, no estaba solo en mis sentimientos sobre el estado de la química”. Kowalski, doctorando de Thomas Isenhour en Washington, donde aprendió los secretos del FORTRAN, había publicado en 1969 trabajos sobre la máquina lineal de aprendizaje (31) y el mejor delimitador para el clasificador de patrones por mínimos cuadrados. El mismo año que Wold acuña la palabra quimiometría, Isenhour y Peter Jurs publican el review “Some chemical applications of machine intelligence” (32). En el ámbito de la quimiometría, se han empleado desde hace mucho tiempo herramientas conocidas como inteligencia artificial y aprendizaje automático.

4. INTELIGENCIA ARTIFICIAL: UN PRIMER ESBOZO

La idea de la inteligencia artificial llama la atención de científicos y profanos desde que Alan Mathison Turing (1912-1954), matemático británico, y pionero en el campo de la inteligencia artificial, exploró (33) su posibilidad matemática en “*Maquinaria de cómputo e inteligencia*” (1950). Durante la segunda guerra mundial Turing trabajó en descifrar los códigos nazis, particularmente los de la máquina “Enigma”. El término de inteligencia artificial fue introducido por John McCarthy (1917-2012) (34), informático estadounidense, en la Conferencia celebrada en el “Dartmouth College” (1956), definiéndola como “la ciencia y la ingeniería de crear máquinas inteligentes”. En la Fig. 2 se encuentran algunos de los protagonistas, en su momento (parte superior), y 50 años después (parte inferior), junto con la placa conmemorativa del acontecimiento. La inteligencia artificial (capacidad de una máquina para implementar tareas inteligentes) engloba al aprendizaje automático (*machine learning*) (algoritmos que aprenden de los datos de entrenamiento, identifican patrones y hacen predicciones) y éste al aprendizaje profundo (*Deep learning*) que se vale de redes neuronales multicapa (35), que imitan en su funcionamiento el cerebro humano. El número de trabajos publicados sobre la materia crece de forma exponencial como se aprecia en un trabajo de Angela Wilson, editora de “*Annual Reports in Computational Chemistry*” elegida en 2021 presidente de la American Chemical Society.

Un trabajo reciente versa sobre el papel de la inteligencia artificial en toxicología (36), mencionándose en otro alguna de las aplicaciones: programación de lenguajes, sistemas expertos, optimización, robótica, aprendizaje automático, lenguaje, visión y reconocimiento de imagen (37). En lo que respecta a la Inteligencia artificial versus Química Analítica por décadas, (38) se tiene la del comienzo, simulaciones de proceso, redes neuronales, avan-



August 1956. From left to right: Oliver Selfridge, Nathaniel Rochester, Ray Solomonoff, Marvin Minsky, Trenchard More, John McCarthy, Claude Shannon.



Figura 2. Algunos de los protagonistas de la Conferencia celebrada en el Darmuth College (1956) en el momento original (sup.), y 50 años después (inf.) (34).

ces significativos en el análisis de datos, consolidación y avances en datos masivos (big data) y aplicaciones a la química analítica a gran escala.

Algunos hechos destacables en la historia de la inteligencia artificial merecen mención (39):

- Redes neuronales y la acuñación de los términos inteligencia artificial y aprendizaje automático en la década de 1950, como hemos indicado ya.
- ELIZA, el Chatbot con capacidades cognitivas, y Shakey, el primer robot inteligente móvil, capaz de razonar sobre sus acciones

y su entorno, en la década de 1960 (1966). Las tecnologías de chatbot, un programa informático capaz de reconocer preguntas y proporcionar respuestas automatizadas, utilizan inteligencia artificial y procesamiento del lenguaje natural (NLP). ELIZA fue desarrollado por Joseph Weizenbaum (1923-2008) en el Instituto Tecnológico de Massachussets. Se han desarrollado diversas tecnologías de Chatbot desde ELIZA al Chat-GPT.

- El invierno de la IA, seguido de su renacimiento en las décadas de 1970 y 1980.
- Procesamiento de voz y video en la década de 1990.



- IBM Watson (capaz de responder a preguntas formuladas en lenguaje natural), asistentes personales, reconocimiento facial, deepfakes (video, imagen o audio creado o manipulado usando IA), vehículos autónomos, creación de contenido e imágenes GPT (Transformador Generativo Pre-entrenado, que utiliza aprendizaje profundo para entender y generar texto similar al humano), y clones de Inteligencia Artificial Generativa (GenAI) realistas (representación digital integral que encarna tu voz, tono, conocimiento, experiencia e incluso tus gestos) en la década de 2000.

5. ALGUNAS ANOTACIONES DE CARÁCTER HISTÓRICO EN TORNO A LA QUIMIOMETRÍA

Wold acudió el curso 1973-74 invitado por Box y (Bill) Hunter, a la Universidad de Wisconsin. A mediados de octubre conoce a Kowalski en la Universidad de Arizona (Tucson) donde se celebraba un simposio de la Oficina Naval de Investigación sobre química y computadoras (14). Según Box, “Hunter aspiraba a favorecer las condiciones de vida de las personas menos afortunadas y él y su familia pasaban largos periodos ayudando a países del tercer mundo”. Hunter, poeta de la estadística, fallece muy joven, a los 49. En los meses de mayo y junio de 1975, Wold y Kowalski coinciden en Seattle (Universidad de Washington). Allí, Wold muestra su “modelado independiente suave de analogía de clase” (SIMCA, Soft independent modelling of class analogies) para la clasificación supervisada en reconocimiento de patrones y dado su buen funcionamiento es incluido en ARTHUR, el paquete quimiométrico de libre acceso, elaborado en Seattle, creado sobre la base del PATTRN que Kowalski ayudó a desarrollar en Livermore, con Bender. El nombre proviene de “Arthur Fredericks Findeis” (1928-1992), director de la División Química de la Fundación Nacional de la Ciencia.

Poco antes de su regreso a Umea (Suecia), Wold y el grupo de Kowalski quedan la noche del 10 de junio de 1974 en un pequeño restaurante Tex-Mex (casa Lupita) en Seattle. “Tras varios tragos de tequila”, comenta Wold, “decidimos crear la Sociedad de Quimiometría” que pronto se convierte en “La Sociedad Internacional de Quimiometría”. La carta firmada por Kowalski y Wold se publica (40) en el Journal of Chemical Information and Computer Science, en 1975. En enero de 1976 aparece el primer “Chemometrics Newsletter”, redactado por Kowalski.

Otros protagonistas van apareciendo en escena (41), como indican Kim Harry Esbensen (1950-), Profesor Asociado del Servicio Geológico de Dinamarca y Groenlandia y Paul Geladi (1951-2024), belga, profesor en la Universidad sueca de Ciencias de la Agricultura de Upsala, Massart de la Universidad Libre de Bruselas, ya citado, Sergio Clementi, de la Universidad de Perugia (Italia), Philips K. Hopke, profesor del Departamento de Química y miembro del Instituto para un Medio Ambiente Sostenible de la Universidad Clarkson en Potsdam (NJ), Olav Hans Jürgen av Montrose Christie (1930-2018), minerólogo, geoquímico y analista de datos matemáticos noruego, presidente del grupo de química analítica de la Sociedad Química Noruega (1969-1981), Harald Aagaard Martens (1946-), noruego, químico alimentario, investigador principal del Instituto Noruego de Investigación Alimentaria (NOFIM) y después miembro del Departamento de Ingeniería Cibernética de la Universidad Noruega de Ciencia y Tecnología, Steve David Brown (1950-), del Departamento de Química y Bioquímica de la University of Delaware (DE), Stanley Norris Deming (1940-), Profesor del Departamento de Química la Universidad de Houston (TX), destacándose tanto por la calidad científica de sus trabajos como por su labor pedagógica, pudiendo citarse entre ellos a Massart (23, 41) por la notable difusión que lleva a cabo de la quimiometría a los no especialistas.



Kowalski organiza en Cosenza (Italia), 1983, la primera reunión internacional sobre quimiometría (14). En ella se aborda detalladamente tanto el análisis discriminante de PLS como la regresión de PLS. Este encuentro, muy atractivo intelectualmente, se caracterizó por las condiciones de vida, espartanas, que tuvieron que soportar los asistentes, e.g. sin asientos de inodoro o papel.

6. PRIMEROS LIBROS, REVISTAS, CONGRESOS Y ESCUELAS DE QUIMIOMETRÍA

Los primeros libros de texto elaborados por Kowalski y Massart aparecen en 1986 y 1988, respectivamente (42). Deborat Illman, coautora del primero, graduada en química por la Universidad de Washington, doctorada en química-física por la Universidad Estatal de Campinas (Brasil), divulgadora de la ciencia y técnica en medios de comunicación, ha sido elegida en 2023 “Fellow” de la “Asociación Americana para el Avance de la Ciencia”. Aparecen las primeras revistas científicas: “Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems” (Elsevier) y “Journal of Chemometrics” (Wiley). Se organizan diferentes congresos sobre “Quimiometría en Química Analítica”, y se procede a la creación de sociedades quimiométricas en diversos países entre ellos España, a iniciativa (14) de Enric Casassas i Simó (1920-2000), y el “Instituto de Estudios Avanzados de Quimiometría de la OTAN”. El Proyecto Europeo COMET (1987-1989) para la enseñanza de la Quimiometría facilita la aparición de escuelas de Quimiometría en Eguilles (Aix- en Provence, Francia), Castillo de Tortosa en la desembocadura del Ebro (España) y Gargnano (Italia). El “Colloquium Chemiometricum Mediterraneum, también hace su aparición en 1987...” Comienzan a proliferar las Escuelas de verano de Quimiometría, e.g. en las Universidades de Nimega, de Copenhague, de la Rioja, y las de invierno, e.g. San Carlos (Sao Paulo), Campinas, Porto Alegre, ... además de otras en Rusia, Irán, más allá de nuestra órbita usual.

7. LA QUIMIOMETRÍA, ROSA DE LOS OPUESTOS

Uno de los problemas de los que adolecía la Quimiometría era el de un déficit de nomenclatura, dada la abundancia de métodos y técnicas objeto de estudio. Los vocablos usados en el ámbito científico, e.g. análisis químico y química analítica deben constituir un reflejo del significado que poseen en los campos de los que han sido adoptados. Las recomendaciones de la IUPAC referentes a la quimiometría proceden (43) de fecha reciente, 2016, aunque la tarea inicial comenzó a acometerse en 2009. Hasta hace muy poco tiempo se carecía de un léxico completo de quimiometría; lo más similar era una página WEB compuesta en 2008 por Vandeginste, hoy día caduca.

Geladi (44) simboliza a la Quimiometría como la rosa de los opuestos. Uno de los cometidos fundamentales que le competen es el rechazo de modelos duros, basados en leyes físicas y su reemplazo por modelos blandos, aquellos capaces de soportar los datos. El antagonismo entre ruido y modelo manifiesta la divergencia entre la Quimiometría, (que entiende la bondad de un modelo como el que tiene asociado un bajo residual) y la estadística tradicional (que hace hincapié en conocer cómo se distribuyen exactamente el error residual). Los dos contrarios de muestreo y diseño juegan un rol destacable. El diseño de los experimentos de manera cuidadosa constituye la situación ideal, aunque lamentablemente esto no resulta posible en numerosos casos. A veces, el total del muestreo se acepta, formando parte de los datos. Se tiene además una contraposición de los modelos a priori (en los que se conoce el comportamiento de los datos conocemos como se comportarán los datos por adelantado) y modelos a posteriori (son los datos los que direccionan las pautas a seguir) que evitan llevar a cabo suposiciones previas de antemano. Geladi, belga, defendió su PhD Thesis en Amberes, y ejerció como profesor en Umea (Suecia). Sus trabajos son muy citados, y su fallecimiento (45) se ha producido recientemente, como se indica en una sección previa.



8. DEL ANÁLISIS UNIVARIANTE AL MULTIVARIANTE Y AL BIG DATA

En 1982, reunidos un grupo de quimiómetras expertos en Petten (Holanda), proponen (1, 14, 41) la definición de Quimiometría siguiente: “La Quimiometría es una disciplina química que usa métodos matemáticos y estadísticos para a) proyectar o seleccionar, procedimientos óptimos de medida y de realización de experimentos, y b) obtener un máximo de información química a través del análisis de los datos químicos”. Nótese la omisión del vocablo multivariante en la definición, ya que se utilizan los métodos univariantes cuando su empleo es suficiente. Con la ayuda de los supuestos del diseño experimental, se logra interpretar el conjunto de datos multivariantes de modo más eficaz e ilustrativo que mediante el enfoque clásico de variación de un “factor a la vez”, que resulta ser inapropiado en aquellos casos en los que se manifiesta una correlación entre los factores. Martens, en el curso de la Conferencia Italiana de Química Analítica transcurrida en Parma (Italia) en 1983, inició su intervención interpretando una composición musical con una sola cuerda de guitarra: “Esta es una estadística univariante” adujo. A continuación, interpretó la misma composición con todas las cuerdas de guitarra y afirmó: “... y esto es estadística multivariante”.

En los inicios de los 70 los complejos datos multivariados obtenibles reclaman el uso de métodos matemáticos y estadísticos novedosos para lograr la extracción de la información subyacente en las muestras. Esta situación queda retratada por Martens (46) brevemente en una entrevista: “Too much data”. Los progresos recientes en el diseño de la instrumentación, el control mediante microprocesadores y la adquisición de datos por computador han aumentado su velocidad de acceso, siendo factible disponer de gran número de medidas realizadas sobre múltiples parámetros en una fracción del tiempo anteriormente necesario y con menos trabajo. La automatización ha

conducido a cambios de naturaleza cualitativa y cuantitativa en la forma de planificar las experiencias. Martens ha sido uno de los receptores (47) de la Medalla Herman Wold. En un trabajo reciente (48) ofrece una descripción general de las actividades de modelado de “Big Data” y sus puntos de vista sobre la IA de hoy y de mañana. Es fundador de NatMat AS (una pequeña empresa cuyo lema es: “Primero la naturaleza, luego las matemáticas”). <https://www.ntnu.edu/employees/harald.martens>

La filosofía básica de la experimentación y su realización práctica mediante el diseño experimental ha evolucionado de forma sustancial, a pesar de que nuestra capacidad de interpretación no marcha a la suficiente rapidez como para conseguir explorar en su totalidad esta oleada electrónica de datos. Muchos campos de la ciencia han sufrido (10, 48) esta revolución “Big Data”, química analítica inclusive. En un trabajo reciente perteneciente al área de la Toxicología (37) se tabulan los métodos usados en el manejo de los datos masivos (Tabla 1). Hay que indicar que su coautora, Nicole Kleinstreuer, neozelandesa, del Instituto Nacional de Salud Medioambiental de los Estados Unidos de América, ha recibido el Premio Lush 2016 de Jóvenes Investigadores, dotado con 15.000\$.

9. RECONOCIMIENTO DE PATRONES

Un método que ayuda a convertir los datos en información es el denominado reconocimiento de patrones, modelos o pautas (49). El motivo para utilizar el reconocimiento de patrones en el análisis de una base de datos multivariantes reside en hacer factible la comprensión e interpretación de la información multidimensional latente. Estas técnicas se utilizaron inicialmente en la solución de problemas relacionados con el procesamiento de datos en áreas diversas tales como desciframiento de escritura a mano y de caracteres alfanuméricos impresos, predicción del tiempo, diagnóstico médico, y análisis de lenguaje, entre otras.



TABLA 1. Métodos usados en la gestión de los “Big Data” (datos masivos) (37).

Tecnologías de Big Data

BASE DE DATOS RELACIONAL ESTRUCTURADA	NoSQL SEMI-ESTRUCTURADA	HADOOP SEMIESTRUCTURADO	SPLUNK
Esquema al Escribir (Scheme on Write)	Esquema al Leer (Schema on Read)	Esquema al Leer (Schema on Read)	Esquema al Leer (Schema on Read)
SQL Lenguaje de Consulta Estructurado (Structured Query Language)	<ul style="list-style-type: none"> • Par Clave-Valor • Columna • Documento • Otros modos de almacenamiento 	MapReduce	Search (Data Search Engine)
ETL (Extraer, Transformar, Cargar) (Extract Transform Load)		Almacenamiento HDFS Sistema de archivos distribuidos de Hadoop (Hadoop Distributed File System)	Indexación en Tiempo Real (Real Time Indexing)

La problemática de la clasificación se formula de la siguiente manera: dado un conjunto de categorías o clases entre las que es posible distribuir las diferentes muestras se procede a encontrar una regla que permita su separación, así como la clasificación de muestras desconocidas, y en adición, la selección de entre los N parámetros clasificatorios de un número menor con los que efectuar la clasificación (reducción de la dimensionalidad). Los dos aspectos fundamentales de todo reconocimiento de modelos son (50) el desarrollo o creación de una regla de decisión (clasificador) y la elección de esta. El reconocimiento se efectúa cuando se utiliza la regla; el patrón o modelo se define en base a un proceso de aprendizaje (learning process). Para definir un modelo se utiliza una muestra controlada de dicho modelo. Un problema de diseño de un clasificador comienza, en líneas generales, con la definición de las clases objeto de estudio, y la presentación adecuada de la muestra controlada de cada una de ellas. El problema termina cuando se ha obtenido una regla de decisión en base a la cual se puede asignar un modelo “no controlado” (y, por tanto, cuya clase de pertenencia se desconoce) a aquella clase para la que se estime un menor riesgo en la clasificación.

La utilización de la regla de decisión (o sea, el diseño del clasificador) puede ser fija o adaptativa. En el primer caso se diseña el clasificador a base de la muestra controlada de patrones y no sufre ninguna modificación una vez clasificados los patrones cuya clase de pertenencia se desconoce. En el segundo caso, el clasificador se modifica a medida que se va utilizando. Así, una vez construido el clasificador, se asigna un nuevo modelo a una clase, según el resultado de su aplicación. Un detector de errores indica a continuación si la clasificación ha sido correcta, en cuyo caso no se modifica el clasificador, o si es preciso proceder a su modificación si el resultado ha sido erróneo.

El reconocimiento de patrones se caracteriza por dos etapas (51): el análisis exploratorio de datos y el reconocimiento de pautas patrones en sí mismo. El análisis exploratorio de datos tiene por objetivo abordar tres aspectos fundamentales de los datos: existencia de muestras o medidas anómalas, correlaciones significativas entre las variables medidas y correlaciones características o agrupaciones entre muestras. En el análisis exploratorio de datos se hace uso de una gran diversidad de técnicas mediante un proceso iterativo. Las técnicas o herramientas primarias utilizadas en el aprendizaje (no supervisado) son el análisis

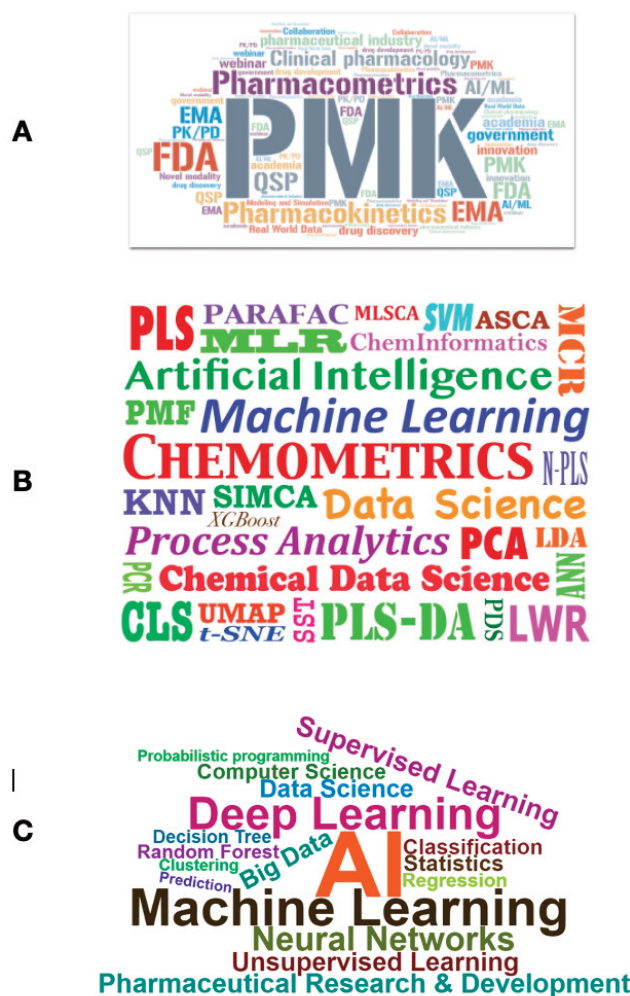


Figura 3. Mapa de citas. A: de Farmacometría, Sociedad Americana para la Farmacología Clínica y Terapéutica (54). B: del ámbito de la Quimiometría (73). C: de máquina lineal de aprendizaje e inteligencia artificial en desarrollo e investigación farmacéutica (90).

factorial (FA), análisis por componentes principales (PCA) y análisis de agrupamientos “cluster” (CA). Se dispone de numerosos algoritmos aplicables en la clasificación de objetos. De entre los empleados más a menudo se tienen: modelado independiente suave por analogía de clases (SIMCA), método del vecino más próximo (KNN, k-nearest neighbour) y análisis discriminante lineal (LDA).

Las técnicas citadas son objeto de atención en un trabajo reciente (52) publicado en el Annual Review of Analytical Chemistry cuya coautora, Michelle Kovarit, es Doctora en Química Analítica por la Universidad de Indiana (Bloomington). En la Fig 2b del trabajo de Vijayan et al. (53) se aprecia de forma detallada la categorización de los métodos de

aprendizaje automático y aprendizaje profundo aplicables en el descubrimiento de fármacos con inteligencia artificial en aprendizaje reforzado, e.g. algoritmos genéticos; y clásicos, supervisados y no supervisados. En García Perez et al. (5) se contempla el conjunto de herramientas analíticas de próxima generación para la evaluación de la calidad y autenticidad de los alimentos: máquina lineal de aprendizaje, aprendizaje profundo, análisis de agrupamientos (cluster) y reducción de la dimensionalidad, y en Kleinstruer y Hartung (37) el aprendizaje y predicción para la clasificación supervisada y no supervisada con el uso de la máquina lineal de aprendizaje, en el campo de la Toxicología.



Con el transcurso del tiempo van apareciendo distintas especializaciones, materias o ramas de la Quimiometría, como la de “sintometría”, en referencia a la síntesis orgánica, “enviometría”, que engloba a las aplicaciones relacionadas con el medio ambiente, “cualimetría” (calidad) definida por Martens como la que concierne con el uso de métodos quimiométricos para la mejora del control y del aseguramiento de la calidad. La “farmacometría” (futuro ya presente de la farmacología de precisión) implica el uso (54) de métodos quimiométricos en la síntesis, análisis y formulación de productos farmacéuticos. En la Fig. 3 (superior) se incluye el mapa de citas (55) de la ASCPT, Sociedad Americana para la Farmacología Clínica y Terapéutica (American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics).

La inteligencia artificial (56) emergió de la necesidad de tratar con el conocimiento simbólico, contrario al numérico, no solo algorítmicamente, sino también heurísticamente. Un gran número de aplicaciones desarrolladas corresponde a los sistemas expertos, aunque las redes neuronales artificiales encuentran múltiples e insospechadas aplicaciones y los algoritmos genéticos, en adición, han mostrado ser alternativas interesantes en el terreno de la optimización.

Los sistemas de optimización son bien conocidos en Química Analítica, por ejemplo, el sistema “Simplex” (57) introducido por Deming y Morgan y sus múltiples variantes. El simplex muestra problemas de convergencia en superficies de respuestas multimodales complejas y de muy alta dimensión (aquí guardo correspondencia con Deming de 1978). Los algoritmos genéticos trabajan mediante mecanismos de múltiples búsquedas evolutivas en paralelo, y superan fácilmente en consecuencia estas dificultades, siendo enormemente robustos para la localización de un óptimo global con precisión aceptable. Las exigencias de cálculo y de memoria de ordenador son superiores y, se encuentran ya incorporadas a paquetes de

software quimiométrico, suficientemente apropiados para su implementación directa en el laboratorio analítico.

También emerge la teoría de la lógica borrosa (fuzzy set theory), concebida originalmente por los matemáticos, hace tiempo, como consecuencia de la necesidad de describir objetos con atributos inherentemente difusos. Los datos borrosos representan conceptos intuitivos (“algo”, “mucho”, “poco”, “bastante”) y no valores cuantitativos, permitiendo efectuar reconocimiento de modelos a partir de los mismos.

10. REDES NEURONALES

Las redes neuronales se erigen sin lugar a duda en un terreno muy prolijo de exploración y estudio (58), constituyéndose en una poderosa herramienta para afrontar problemáticas numerosas y diversas (59). Se describen redes neuronales capaces de aprendizaje paulatino lo que supone la puesta a disposición para el adiestramiento de la red de los datos emergentes que surgen. La capacidad del cerebro humano ha llamado desde siempre la atención de los científicos, y el interés por averiguar sus mecanismos de funcionamiento. En el transcurso de las últimas décadas se han puesto a punto modelos que tratan de imitar las funciones cerebrales. No obstante, la evolución de los computadores ha seguido un camino bastante diferente; las arquitecturas de los computadores disponibles existentes, sus sistemas operativos, y la programación lineal no tienen mucho en común con el proceso de información tal como se desarrolla en el cerebro humano. A pesar de esto, se está llevando a cabo una reevaluación de las capacidades del cerebro humano con objeto de que éstas pueden ser trasladables a algoritmos del proceso de la información.

“El bloque o edificio básico de estos modelos cerebrales (redes neuronales) es una unidad de proceso de información, Fig. 4 (superior), que es un modelo de neurona (60). Una neurona artificial de este tipo realiza solo

operaciones matemáticas bastante simples. Su eficacia se deriva, sin embargo, del modo en que grandes cantidades de neuronas pueden conectarse formando una red. Dado que los modelos de neuronas imitan diferentes habilidades del cerebro, resulta posible utilizar éstas para resolver diferentes tipos de problemas: clasificación de objetos, modelo de relaciones funcionales, almacenamiento y recuperación de información, o representación de grandes cantidades de datos. Las posibilidades en el procesamiento de los datos químicos de las redes neuronales artificiales son grandes, y las aplicaciones cubren en consecuencia un amplio rango”.

El poder de procesamiento del cerebro humano es inmenso, superando con creces a los computadores actuales más punteros. El cerebro humano gestiona la información de un modo totalmente distinto al de las computadoras usuales cuya construcción siguen las pautas de la arquitectura del científico matemático y polímata húngaro emigrado a los EEUU John von Neumann (1903-1957) y traba-

jan de forma secuencial, a través de programas (algoritmos) paso a paso. El funcionamiento del cerebro humano cursa esencialmente en paralelo: la información de entrada se canaliza de modo simultáneo a través de múltiples unidades de procesamiento. Los trabajos originales sobre redes neuronales datan (61) de hace unos setenta años por Warren Sturgis McCulloch (1898-1969), neurólogo y cibernético estadounidense y Walter Pitts (1923-1969), de la Universidad de Indiana, en 1943, y Donald Hebb (1904-1985), pionero de la biopsicología, doctorado en Harvard, y profesor de la Universidad McGill en Canadá, en 1949 (62). La introducción del “perceptron” se debe (63) a Frank Rosenblatt (1928-1971), un psicólogo norteamericano destacado en el campo de la inteligencia artificial, del “Cornell Aeronautical Laboratory” de Buffalo (NY) en 1958, adscrito posteriormente al Cornell Campus de Ithaca.

Este trascendental tema no originó en sus inicios mucha expectación hasta el surgimiento (64) de una publicación de John Joseph

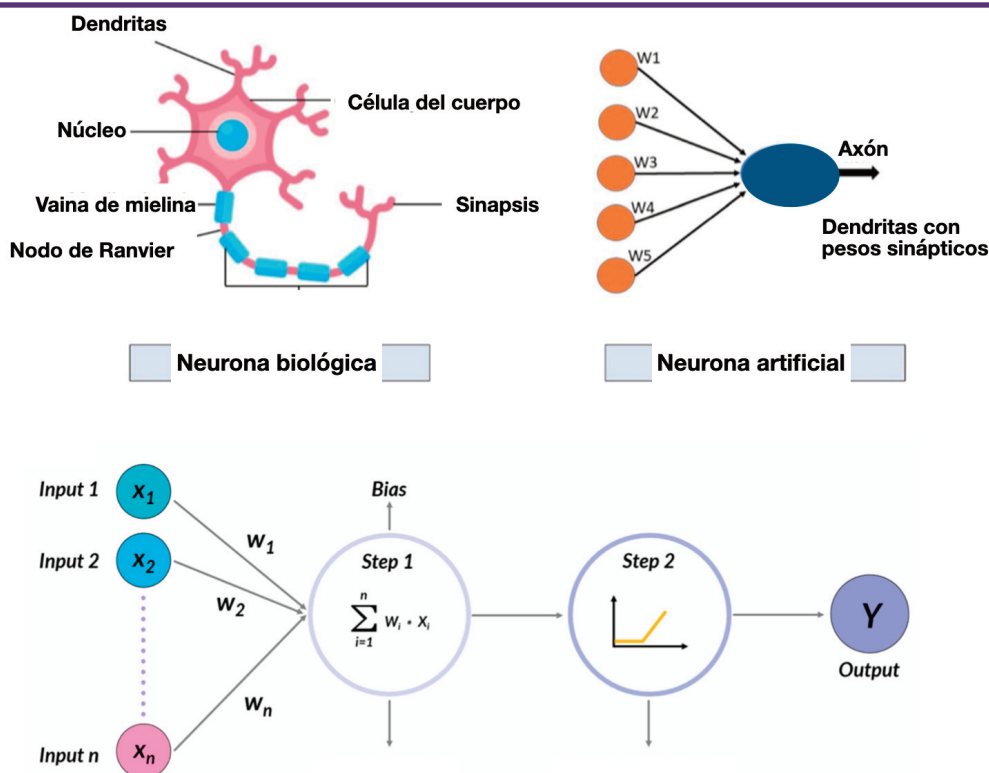


Figura 4. Representación gráfica de una neurona biológica y una neurona artificial (sup.) (60). Representación simplificada del perceptrón (inf.) (66).

Hopfield (1933-), profesor de la Universidad de Princeton en 1982, cuando trabajaba en la División de Química y Biología del Instituto Tecnológico de California. “La introducción del concepto de no linealidad entre la entrada total recibida por una neurona procedente de otras y la salida producida y transferida hacia el exterior, y el acoplamiento por retroalimentación de las salidas con las entradas, aporta flexibilidad a la antigua arquitectura del perceptron”. A Hopfield le ha sido otorgado (65) el Premio Nobel de Física en 2024. En junio de 2020 el autor de esta revisión mantuvo correspondencia con Hopfield para disponer del permiso para incluir su imagen (1) en la obra “Química y Medida”. En la Fig. 4 (inf.) se muestra (66) una representación simplificada del perceptrón.

Las redes neuronales artificiales son modelos empíricos de entrada-salida aptos para el tratamiento de relaciones complejas multi-entrada multi-respuesta, mediante ajuste de curvas (67). Un rasgo fundamental es su capa-

de amaestramiento. La información contenida se distribuye sobre un elevado número de parámetros modelos, que dan cuenta de su gran flexibilidad. Al imitar el proceso cognoscitivo humano son apropiadas al procesamiento de datos con ruido, datos incompletos, e incluso en alguna extensión, datos inconsistentes. “Las redes neuronales artificiales son modelos de las estructuras en nuestro cerebro que hacen posible el pensamiento; una serie de nodos de entrada están conectados vía una segunda capa de nodos a un nodo final de salida. La segunda capa es denominada a menudo capa oculta. Todos los nodos de la capa oculta guardan todas las conexiones posibles con los nodos de entrada y de salida (Fig. 5). Cada conexión traslada la señal (s) de un nodo de entrada a un nodo más profundo de la red, aplicando cada una su propia contribución individual (w) por lo que la señal de salida es el producto $w s$ ”. Todas las entradas se suman de forma ponderada a sus señales originando un “input” neto. A continuación, se aplica una

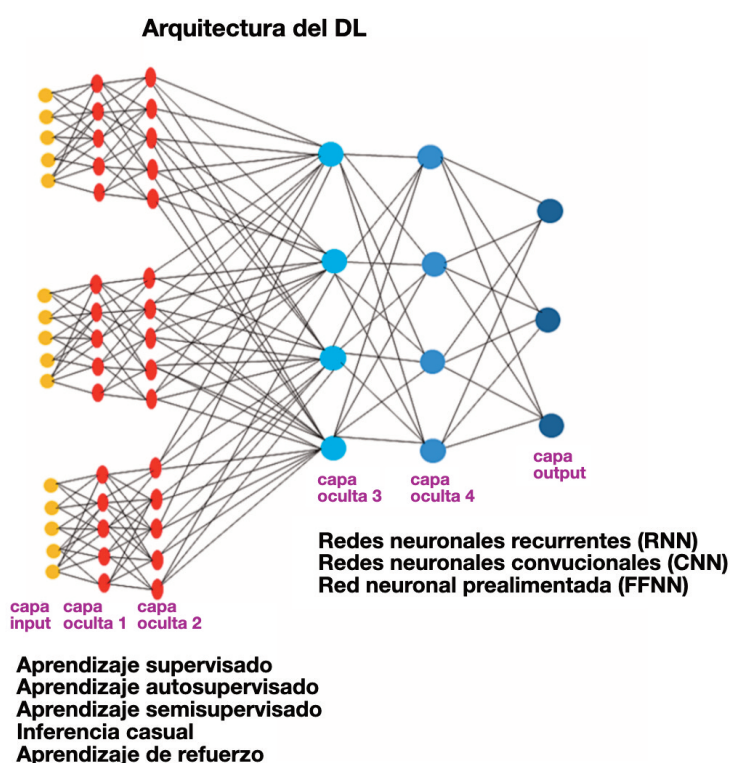


Figura 5. Diferentes arquitecturas y algoritmos usados en ML y DL en Medicina y Ciencias de la Salud (39).



función de transferencia para computar una señal de salida. Se han utilizado diferentes funciones de transferencia, la sigmoide con valores de salida definidos en el rango (0,1), la preferida, la función tangente hiperbólica, una función sigmoide definida en el rango (-1, 1), la función unidad lineal rectificadora (ReLU) con salida entre 0 e infinito.

Pueden citarse algunas aplicaciones; e.g. en el ámbito de la metabolómica y calidad y autenticidad de la alimentación (5), en la correlación asistida estructura-espectro (68) o en la interpretación de datos de bases de espectros, publicado también en "Analytical Chemistry" (69), en este último caso trabajo del grupo de HU Haiyu del Instituto de Materia Médica de la Academia de Ciencias Médicas de Pekín.

11. QUIMIOMETRÍA Y QUÍMICA ANALÍTICA

La quimiometría se inicia y se desenvuelve dentro del ámbito de la química analítica, constituyendo los expertos en esta rama de la química los principales usuarios de sus métodos. Actualmente parece consolidarse una predisposición "a salirse del marco de la química analítica para convertirse en una disciplina independiente". Dos hechos apuntan en esta dirección. El primero, el aumento de la complejidad del aparataje matemático empleado en la quimiometría. Veinte años atrás, era común el aprendizaje y aceptación del enfoque multivariado de los datos por parte de los químicos analíticos; e.g. proyección a estructuras latentes (PLS) o la descomposición de valores singulares (SVD). Con el tiempo salen a la luz otros métodos de análisis de datos, enfoque de múltiples vías o datos multimodo (N-way data), análisis "wavelet" (WT), máquinas de soporte vectorial (SVMs), y otros, originándose una grieta cada vez mayor entre los químicos y los "quimiometras". Los primeros no aciertan a comprender qué y por qué los segundos se paran a idear los nuevos métodos, que dejan de ser objeto de demanda, circunstancia no suficientemente advertida. Surgen adicionalmente muchas aplicaciones en las

que el enfoque quimiométrico se utiliza con acierto en ámbitos distantes de la química analítica, como el control estadístico multivariante de procesos, el análisis de imágenes y la biología. Numerosos asistentes a reuniones, jornadas y congresos de quimiometría en química analítica se formulan la pregunta de si la quimiometría sigue formando parte constitutiva de la misma.

Para dos grupos de variables explicativas por objeto los datos multivariantes se denominan "de tres modos" (16). Los modelos que descomponen los datos "multi-modo" incluyen a PARAFAC (descomposición canónica) (70). Las intensidades de fluorescencia con representación de las variables de longitudes de onda de excitación y de emisión en dos de los ejes, y los objetos en el tercero constituyen un ejemplo (2, 15). La implementación de los modelos de segundo orden en la industria farmacéutica (6), su contribución a la química verde (71) y la evaluación y autenticación de la calidad alimentaria (72) han sido objeto de sendas revisiones.

Se ha producido en este siglo un gran avance en el software quimiométrico (Tabla 2) disponiéndose en adición a los grandes paquetes estadísticos convencionales CSS Statistica,

Tabla 2. Software quimiométrico (73).

	SOFTWARE QUIMIOMÉTRICO
CSS Statistica	
Statgraphics	
SPSS	
The Unscrambler (CAMO Software)	
Process Pulse (CAMO Software)	
PLS Toolbox (Eigen Vector Research)	
Solo Predictor (Eigen Vector Research Inc.)	
SIMCA (Umetrics-Sartorium Stedium Data Analysis)	
SPM-Salford Predictive Modeler (Salford-Systems - a Minitab Company)	
XLStat (Addinsoff Software)	
OPUS (BRUKER OPTICS)	
NIRcAL (BÜCHI)	
Design-Expert (Stat-Easy Software)	
Pirouette (Infometrix)	

Statgrafs, SPSS..., que lo contemplan, de software adicional especializado (incluido el de los destinados a equipos). Esto ha abierto muchas opciones nuevas para la mejora del análisis de datos; el análisis de la bibliografía conduce al mapa de citas (73) mostrado en la Fig. 3 (centro).

En los últimos 50 años hemos asistido a un progreso espectacular en la cantidad de problemas a afrontar (74), en el acceso a una instrumentación cada vez más sofisticada y en el incremento de la posibilidad de cómputo. Las modernas aplicaciones de la quimiometría son seductoras y se encuentran en la frontera del conocimiento; e.g. análisis de imagen (75), metabólica, síntesis química... Millones de datos numéricos inclusive el tiempo como una dimensión adicional conforman las matrices de datos. Resulta factible estudiar tanto la evaluación de los datos como la previsión de su comportamiento. Imbuido en estas consideraciones Michele Forina (1938-) (14) segundo Presidente tras Kowalski de la Sociedad Internacional de Quimiometría, Doctor Honoris

Causa por la Universidad de Burgos (España), afirma (14): “Si tuviera que empezar de nuevo mi vida, volvería a ser quimiómetra”.

12. APLICACIONES SELECCIONADAS

Los métodos tradicionales no han sido diseñados para tratar el gran número de datos disponibles hoy día. Es por lo que se requiere disponer de nuevos métodos y estrategias para extraer la información química relevante del “tsunami” (avalancha de datos disponibles), como se contempla en la entrevista - Gurús de la quimiometría - que se le formula a Lutgarde Buydens, farmacéutica (76), Decana de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Nimega (Países Bajos). En la Fig. 6, se muestra (77) un diagrama de Venn algo detallado, de los métodos que conforman la inteligencia artificial. La evolución histórica del “Machine Learning” en Química (78) ha sido objeto de consideración por Header Kulik, Profesora del Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT).

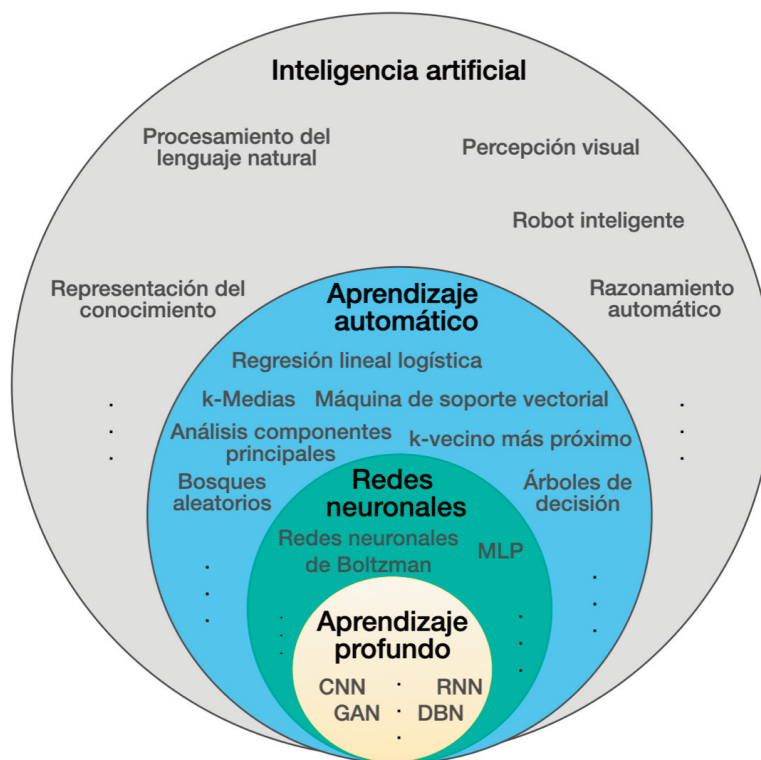


Figura 6. Relación entre inteligencia artificial, aprendizaje automático, redes neuronales y aprendizaje profundo (77). MLP: percepción multicapa; CNN: red neuronal convolucional; RNN: red neuronal recurrente; DBN: red neural de creencia profundas; GAN: red neural generativa adversativa.



TABLA 3. Aplicaciones de la Inteligencia Artificial en el descubrimiento de fármacos (82).

DISEÑO DE FÁRMACOS	Predicción de la estructura 3D de la proteína diana
	Predicción de la interacción fármaco-proteína
	Determinación de la actividad farmacológica
	Diseño de fármacos <i>de novo</i>
POLIFARMACOLOGÍA	Diseño de moléculas de fármacos bioespecíficos
	Diseño de moléculas de fármacos multidiana
SÍNTESIS QUÍMICA	Predicción del rendimiento de reacción
	Predicción de las vías de retrosíntesis
	Diseño de rutas sintéticas
	Desarrollo de conocimientos sobre mecanismos de reacción
REUTILIZACIÓN DE MEDICAMENTOS	Identificación de dianas terapéuticas
	Predicción de nuevo uso terapéutico
PRUEBAS DE DETECCIÓN DE FÁRMACOS	Identificación y clasificación de células diana
	Predicción de la bioactividad
	Predicción de toxicidad
	Predicción de las propiedades físico-químicas

Los avances del reciente cambio de paradigma impulsado por los datos en la medicina y la atención sanitaria (39) han sido puestos de manifiesto. Erin Baker, una estrella emergente en química, et al. (79), de la Universidad de North Caroline (Chape Hill), afrontan los desafíos de la multiómica en el análisis de “Big Data”.

La integración de las técnicas óhmicas, quimiometría y bioinformática en el análisis moderno de alimentos (8) ha sido objeto de estudio, así como los desarrollos recientes del “machine learning” en (80) espectrometría de masas: preprocesado espectral, análisis espectral, óhmica, citometría de masas y espectrometría de masas de imagen. Los autores de este último trabajo son estrellas emergentes de la Universidad de Purdue. La directora, la Profesora Kenthämaa, es la receptora de un Premio de la NASA. El impacto de la inteligencia artificial sobre los avances en farmacología e industria farmacéutica (81) y en el descubrimiento (Tabla 3) de fármacos (82) ha sido

puesto de manifiesto. Las autoras, en este último caso, pertenecen al Instituto Físico de Láseres, Plasma y Radiación de la Universidad de Bucarest.

13. COLOFÓN

Los métodos quimiométricos tradicionales, como el análisis por componentes principales (PCA), la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) y la resolución de curvas multivariantes (MCR), han constituido la base de la calibración y el modelado cuantitativo durante décadas (13). La llegada de la IA y el ML ha ampliado sustancialmente (83) esta capacidad analítica permitiendo el reconocimiento de patrones, el modelado no lineal y el descubrimiento automatizado de características a partir de datos no estructurados, como imágenes hiperespectrales y matrices de sensores de alto rendimiento (84). En las últimas décadas, se ha (re)descubierto el poder de las técnicas de aprendizaje automático en química (85) en



general y química analítica (86) en particular, lo que responde a la necesidad de procesar de forma más eficiente conjuntos de datos altamente complejos como los producidos por plataformas analíticas avanzadas (cromatografía multidimensional, la espectrometría de masas de alta resolución y la imagen espectral, ...) tanto en enfoques dirigidos como no dirigidos.

La esencia de los algoritmos no cambia con independencia de su nombre; la quimiometría es el uso de algoritmos avanzados como la IA, el aprendizaje profundo, las redes neuronales, el aprendizaje automático y otras herramientas matemáticas e informáticas aplicadas a la comprensión de los datos químicos. Actualmente la quimiometría ha tenido un profundo impacto en campos como el descubrimiento de fármacos y el desarrollo de materiales gracias a una comprensión mucho mejor de los procesos químicos.

Vamos a concluir ya la exposición con una sentencia (87) de Derek Lowe que cita Paul Janet: “No es que las máquinas vayan a sustituir a los químicos, sino que los químicos que utilicen máquinas sustituirán a los que no las utilicen”. Lowe es director de Biología Química Terapéutica (88) en el Instituto Novartis para la Investigación Biomédica en Cambridge, Massachussets. “El avance de la IA no es solo una cuestión de tecnología; también está profundamente entrelazado con implicaciones sociales. A medida que la IA se entrelaza más con nuestra vida diaria, genera importantes preguntas sobre la ética, la privacidad y el futuro del empleo” (89). Observamos por último en la Fig 3 (inf.) un mapa de citas sobre la máquina lineal de aprendizaje e inteligencia artificial en Desarrollo e Investigación Farmacéutica (90) aparecido en la revista de la Asociación Americana de Farmacéuticos Científicos.

Agradecimientos

El autor desea expresar su agradecimiento a la RSC (Royal Society of Chemistry), ACS (American Chemical Society), Elsevier y Wikipedia, así como a las Profesoras Dña. Julia Martín

Bueno y Dña. María Dolores Hernanz Vila (Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla) y al Prof. D. Antonio Gustavo González González (Facultad de Química, Universidad de Sevilla), y a la Gestora del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Sevilla, Dña. Sofía Fernández Rojas, por las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

14. REFERENCIAS

1. Asuero AG. Química y Medida: de los orígenes a la miniaturización y a la nanoanalítica (una perspectiva histórica de la química analítica). Editorial Universidad de Sevilla: Sevilla, 2022.
2. Booksh KS, Kowalski BC. Theory of Analytical Chemistry. *Anal Chem* 1994; 66(15): 782A-791 A; Duewer, D. Bruce R. Kowalski, 7 Mar 1942 to 1 Dec 2012. *J Chemomet* 2014; 28(5): 319-320; Workman Jr J. Bruce R. Kowalski: the maverick mind behind chemometrics. *Spectroscopy* 2025; 40(7): 14-18, Brereton RG. A short history of chemometrics: a personal view. *J Chemomet* 2014; 28(10): 749-760; Wold S. Chemometrics, why, what and where to next? *J Pharm Biomed Anal* 1991; 9(9): 589-596.
3. Pell RJ, Seasholtz MB, Beebe KR, Koch MV. Process analytical chemistry and chemometrics, Bruce Kowalski's legacy at the Dow Chemical Company. *J Chemomet* 2014; 28(5): 321-331; Pomerantsev AL, Rodionova O Ye. Process analytical technology: a critical view of the chemometricians. *J Chemomet* 2012; 26(6): 299-310.
4. Stanimirova I, Daszykowi M, Hopke PK. The role of chemometrics in improving clinical data analysis and diagnostics. *TrAC* 2024; 173: 117642 (14 pp).
5. García-Pérez P, Becchi PP, Zhang L, Rocchetti G, Lucini L. Metabolomics and chemometrics: The next-generation analytical toolkit for the evaluation of food quality and authenticity. *Trends Food Sci Technol* 2024; 147: 104481 (14 pp); de Araújo Gomes A, Dias Diniz G, de Sousa Fernandes DD, Ríos-Reina R, Azcarate SM, Spánik I. Digital image-based chemometrics for food analysis: a practical tutorial and roadmap. *Food Chem* 2025; 486: 144531 (18 pp).



6. Vignaduzzo SE, Maggio RM, Olivieri AC. Why should the pharmaceutical industry claim for the implementation of second-order chemometric models: a critical review. *J Pharm Biomed Anal* 2020; 179: 112965 (17 pp); Aboushady D, Samir L, Masoud A, Elshoura Y, Mohamed A, Hanafi RS, El Deeb S. Chemometric approaches for sustainable pharmaceutical analysis using liquid chromatography. *Chemistry* 2025; 7: 11 (27 pp).
7. Dupont MF, Elbourne A, Cozzolino D, Chapman J, Truong VK, Crawford RJ, Latham K. Chemometrics for environmental monitoring: a review. *Anal Methods* 2020; 12 (38): 4597 (24 pp); Inobeme A, Nayak V, Mathew J, ...Inobeme J, Agbugui MM, Singh KRB. Chemometric approach in environmental pollution analysis: a critical review. *J. Environ Management* 2022; 309: 114653 (18 pp).
8. Okoye CO, Jiang H, Nazar, M, Tan X, Jiang J. Redefining modern food analysis: significance of omics analytical techniques integration, chemometrics and bioinformatics. *TrAC* 2024, 175: 117706 (13 pp); Musfiroh I, Maritha V, Harlina PW, Muchtaridi M, Bakar NKA, Rohman A, Dachriyamus D, Ikram NKK, Windarsih A. Chemometrics applications in omic studies (Metabolomics, Kipidomics, and Proteomics) for halal authentication in food and pharmaceutical products. *App Food Res* 2025; 5:100770 (9 pp).
9. Riu J, Giussani B. Analytical chemistry meets art: the transformative role of chemometrics in cultural heritage preservation. *Chem Intell Lab Syst* 2024; 247: 105095 (17 pp).
10. Saveliev M, Panchuk V, Kirsanov D. Math is greener than chemistry: assessing green chemistry impact of chemometrics. *TrAC* 2024; 172: 117556 (7 pp); Martens, H. A greener, safer, and more understable AI for natural science and technology. *J Chemomet* 2025; 39: e3643 (27 pp).
11. Zhao B, Yu Z, Wang H, Shuai C, Qu S, Xu M. Data science applications in circular economy: trends, status, and future. *Environ Sci Tech.nol* 2024; 58 (15): 6457-6474
12. Chapman J, Truong VK, Elbourne A, Gangadoo S, Cheeseman S, Rajapaksha P, Latham K, Crawford RJ, Cozzolino D. Combining chemometrics and sensors: toward new applications in monitoring and environmental analysis. *Chem Rev* 2020; 120 (13): 6048-6069.
13. Workman J, Mark H. From classical regression to AI and beyond: the chronicles of calibration in spectroscopy. Part 1. *Spectroscopy* 2025, 40(2): 13-18; Part II. *Spectroscopy* 2025; 40(7): 6-10.
14. Wold S, Chemometrics and Bruce: some fond memories. In Lavine BK, Brown SD, Booksh KS. 40 years of chemometrics -from Bruce Kowalski to the future, ACS Symposium Series: Washington DC, 2015; Chap 2, pp 1-13; Forina M. Fifty years of Chemometrics, fifty years with Chemometrics, 2015; https://www.researchgate.net/publication/281713984_Fifty_years_of_Chemometrics_fifty_years_with_Chemometrics
15. Olivieri AC. Quimiometría: un matrimonio de conveniencia entre química y matemáticas. <https://www.youtube.com/watch?v=ySxARg7xyjw>
16. Anzardi MB, Arancibia JA, Olivieri AC. Processing multiway analytical data for analytical calibration, classification and discrimination: a successful marriage between separation science and chemometrics. *TrAC* 2021; 134: 116128 (10 pp).
17. Castro RC, Páscoa RNMJ, Saraiva MLMFS, Santos JLM, Ribeiro DSM. Chemometric models for data processing in quantum dots-based photoluminescence methodologies. *Coord. Chem. Rev.* 2024; 502: 215605 (21 pp).
18. Brown S. Some perspectives on the history and sociology of the chemometrics revolution - and some suggestions for what the future holds. *Chimiométrie* 2019, Montpellier, France, 31 Jan 2019; https://chemom2019.sciencesconf.org/data/01_chemom2019_StevenBrown.pdf; Brown SD. The chemometrics revolution re-examined. *J Chemomet* 2017; 31: e2856; Brereton RG, The evolution of chemometrics. *Anal Methods* 2013; 5 (16): 3785 (5pp).
19. Hamada, MS. On reading Youden: learning about the practice of statistics and applied statistical research from a master applied statistician. *Qual Eng* 2022; 34(2): 248-263.
20. Box GEP. Statistical design in the study of analytical methods. *Analyst* 1952; 77(12): 879-891; Youden WJ. Multiple factor experiments in analytical chemistry. *Analytical Chemistry* 1948;20(12): 1136-1140.
21. Tortorella S, Cinti S. How chemometrics support the development of point of need devices? *Anal Chem* 2021; 93 (5): 2713-2722.



22. Vandeginste BGM. Teaching chemometrics. *Anal Chim Acta* 1983; 150: 199-206; Applications of chemometrics. *Pure Appl Chem* 1983; 55(12): 2007-2016; i-Chemometrics. *J Chemomet* 2015; 29(8): 435-441; Chemometrics - general introduction and historical development. En *Chemometrics and Species Identification. Topics in Current Chemistry* vol. 141. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 1-42.
23. Lewi PJ, Smeyers-Verbeke J. Laudatio to Professor D. Luc Massart (1941-2005), educator, organizer, and scientist. *J Chemomet* 2007; 21: 252-256; Vandeginste BGM. Prof. D. Luc Massart 1941-2005. *Chem Intel Lab Syst* 2006; 81(1): 1-2.
24. Massart DL, Vandeginste BGM, Buydens LMS, de Jong S, Lewi PJ, Smeyers-Verbeke J. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A*, Elsevier, Amsterdam, 1997; Vandeginste BGM, Massart DL, Buydens LMC, de Jong S, Lewi PJ, Smeyers-Verbeke J, Part B, Elsevier, Amsterdam, 1998.
25. Simeonov V, Alexandrov S. Philosophical aspects of chemometrical strategy in analytical chemistry. *Fresenius Z Anal Chem* 1987; 316: 314-316.
26. Kowalski BR, Bender CF. Pattern Recognition. A powerful approach to interpreting chemical data. *J. Am. Chem. Soc.* 1972; 94(26): 5632-5639; Kowalski BR, Bender CF. Pattern Recognition. II Linear and nonlinear methods for displaying chemical data. *J. Am. Chem. Soc.* 1973; 95(3): 686-693.
27. Ochoa-Barragan R, Raya-Tapia AY, López-Flores FJ, Ramírez-Márquez C, Ponce-Ortega JM. Artificial intelligence at seventy: from symbolic aspirations to emergent realities. *Ind Eng Chem Res* 2026; xxx:xxx-xxx.
28. Cox DR. *Biometrika: the first 100 years*. *Biometrika* 2001; 88(1): 3-11.
29. Wold H. Nonlinear estimation by iterative least squares procedures. In: F. N. David and J. Neyman, Eds., *Research Papers in Statistics, Festschrift for J. Neyman*, Wiley, London, New York, 1966; Wold H. Estimation of principal components and related models by iterative least squares. In: Krishnaiah, P. R. (Eds.), *Multivariate Analysis*. Academic Press, N.Y., 1966: 391-420.
30. Wold S. 'Spline-funktioner - ett nytt verktyg i data-analysen', *Kem. Tidskr.* No. 3,34-37 (1972); Wold S. Spline functions in data analysis. *Technometrics* 1974; 16(1): 1-11; Kiralj R, Ferreira MC. The past, present and future of chemometrics worldwide: some etymological, linguistic, and bibliometric investigations. *J Chemomet* 2006; 20 (6-7): 247-272.
31. Kowalski BR, Jurs PC, Isenhour TL, Reilley CN. Computerized learning machines applied to chemical problems. Interpretation of infrared spectrometry data. *Anal Chem* 1969; 41(14): 1945-1949; Kowalski BR, Jurs PC, Isenhour TL, Reilley CN. Computerized learning machines applied to chemical problems. Multicategory pattern classification by least squares. *Anal Chem* 1969; 41(6) 695-700; Jurs PC, Kowalski BR, Isenhour TL, Reilley CN. Computerized learning machines applied to chemical problems. Convergence rate and predictive ability of adaptative binary pattern classifiers. *Anal Chem* 1969; 41(6): 690-695; Jurs PC, Kowalski BR, Isenhour TL. Computerized learning machines applied to chemical problems. Molecular formula determination by low resolution mass spectrometry. *Anal Chem* 1969; 41(1): 21-27.
32. Isenhour TL, Jurs PC. Some chemical applications of machine intelligence. *Anal Chem* 1971; 43 (10): 20A-38A.
33. Turing AM. Computing machinery and intelligence. *Mind: a quarterly review of psychology and philosophy* 1950; 59 (236): 433-460.
34. McCarthy, Minsky ML, Rochester N, Shannon CE. A proposal for the Dartmouth Summer research project on artificial intelligence August 31, 1955; <http://jmc.stanford.edu/articles/dartmouth/dartmouth.pdf>; *AI Magazine* 2006; 27(4): 12-14; Moor J. The Dartmouth College Artificial Intelligence Conference: the next fifty years. *AI Magazine* 2006; 27(4): 87-91.
35. Kuntz D, Wilson AK. Machine learning, artificial intelligence, and chemistry: how smart algorithms are reshaping simulation and the laboratory. *Pure Appl Chem* 2022; 94(8): 1019-1054.
36. Lui R. Deus ex machina? The rise of artificial intelligence in Toxicology. *Chem Res Toxicol* 2024; 37(4): 525-527.
37. Kleinstruer N, Hartung T. Artificial intelligence (AI) -it's the end of the tox as we know it (and I feel fine). *Arch Toxicol* 2024; 98(3): 735-754.



38. Rial RC. AI in analytical chemistry: advancements, challenges, and future directions. *Talanta* 2024; 274: 125949 (12 pp).
39. TechTarget. The history of artificial intelligence: Complete AI timeline. <https://www.techtarget.com/searchenterpriseai/tip/The-history-of-artificial-intelligence-Complete-AI-timeline>; 78. Chakraborty C, Bharracharya M, Pal S, Lee SS. From machine learning to deep learning: advances of the recent data-driven paradigm shift in medicine and healthcare. *Curr Res Biotechnol* 2024; 7: 100164 (20 pp).
40. Kowalski BR. Chemometrics: views and propositions. *J Chem Inf Comp Sci* 1975; 15(4): 201-203.
41. Geladi P, Esbensen K. The start and early history of chemometrics. Part 1. *J Chemomet* 1990; 4:337-354; Esbensen K, Geladi P. The start and early history of chemometrics: selected interviews. Part 2. *J Chemomet* 1990; 4: 389-412.
42. Sharaf MA, Ilman DL, Kowalski BR. Chemometrics. Wiley: New York, 1986; Massart DL, Vandeginste BGM, Deming SN, Michotte, Y., Kaufman, L. Chemometrics: a textbook. Elsevier: Amsterdam, 1988.
43. Hibbert DB. Vocabulary of concepts and terms in chemometrics (IUPAC Recommendations 2016). *Pure Appl Chem* 2016; 88 (4): 407-443; Hibbert DB, Minkinen P, Faber NM, Wise BM. IUPAC project: a glossary of concepts and terms in chemometrics. *Anal Chim Acta* 2009; 642: 3-5.
44. Geladi P. Roses of opposites continues to bloom Analysis (Europe) 1995; April : 34-36.
45. Baeten V, Manley M. Tribute to Paul Geladi (1951-2024) *NIR news* 2025 36(1-2): 14-15; Galindo-Prieto B. Paul Geladi legacy: pioneering chemometrics for the future. *J Chemomet* 2025; 39: e70065; Galindo-Prieto B, Linderholm, J., Grahn, H. Paul Geladi (1951-2024) Chemometrician, spectroscopist and pioneer. *J Chemomet* 2024; 38: e 3614.
46. Martens H, Engelsen SB, Berg FVD. Too much data - too little information; *NIR News* 2003; 14(1): 15.
47. Harald Martens - the third ever recipient of the Herman Wold medal. *J Chemomet* 2001; 15: 201-202.
48. Martens H. Quantitative big data: where chemometrics can contribute. *J Chemomet* 2015; 29: 563-581.
49. Kowalski BR. Measurement analysis by Pattern Recognition. *Anal Chem* 1975; 47(13): 1154A-1156A, 1160A, 1162A.; Massart DL, Michotte Y. L'application des méthodes de reconnaissance de formes en chimie analytique. *Bull Soc Chim France* 1979 : 1293-1300 ; Varmuza F. Pattern recognition in analytical chemistry. *Anal Chim Acta* 1980 ; 112 : 227-240 ; Gonzalez AG. Use and misuse of supervised pattern recognition methods for interpreting compositional data. *J. Chromatogr A* 2007 ; 1158 : 215-225 ; Brereton RG. Pattern recognition in chemometrics. *Chem Intell Lab Syst* 2015 ; 149: 90-96.
50. Kryger L. Interpretation of analytical chemical information by pattern recognition methods - a survey. *Talanta* 1981; 28(12): 871-887.
51. Meglen RR. Chemometrics: its role in chemistry and measurement sciences. *Chem Intell Lab Syst* 1988; 3: 17-29.
52. Hupp AM, Kovarik ML, McCurry DA. Emerging areas in undergraduate analytical chemistry education: microfluidics, microcontrollers, and chemometrics. *Annu Rev Anal Chem* 2024; 17: 197-219.
53. Vijayan RSK, Kihlberg J, Croos JB, Poongavanam V. Enhancing preclinical drug discovery with artificial intelligence. *Drug Disc Today* 2022; 27(4): 967-984.
54. Bandeira LC, Pinto, L., Carneiro CM. Pharmacometrics: the already-present future of precision pharmacology. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science* 2023; 57: 57-69.
55. ASCPT American Society for Clinical Pharmacology & Therapeutics. Pharmacometrics & Pharmacokinetics (PMK) Community; <https://www.ascpt.org/Member-Services/Networks-and-Communities/Quantitative-Pharmacology/Pharmacometrics-Pharmacokinetics>
56. Vazquez E. Artificial intelligence in chemistry: the future of scientific discovery 2023; <https://www.linkedin.com/pulse/artificial-intelligence-chemistry-future-scientific-vazquez-ph-d/> ; Ball P. What does AI mean for chemistry. *Chem World* 2023 6 february; <https://www.chemistryworld.com/features/what-does-ai-mean-for-chemistry/4016813.article>
57. Morgan SL, Deming SN. Simplex optimization of analytical methods. *Anal Chem* 1974; 46(9): 1170-1181; Bezerra MA, dos Santos QO, San-



- tos AG, Novaes CG, Ferreira SLC, de Souza VS. Simplex optimization: a tutorial approach and recent applications in analytical chemistry. *Microchem J* 2016; 124: 45-54.
58. Whiteside A. Uncertainty metric builds confidence in machine learned-chemistry. *Chem World* 2019 25 July; <https://www.chemistryworld.com/news/uncertainty-metric-builds-confidence-in-machine-learned-chemistry/3010759.article>
59. He H, Yan S, Lyu D, Xu M, Ye R, Zheng P, Lu X, Wang L, Ren B. Deep learning for biospectroscopic and bio-spectral imagen. *Anal Chem* 2021; 93 (8): 3653-3665.
60. Singh YR, Shah DB, Kulkarni M. Current trends in chromatographic prediction using artificial intelligence and machine learning. *Anal Methods* 2023; 15 (23): 2785-2797.
61. McCulloch WS, Pitts W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *Bull Math Biophys* 1943; 5(4): 115-133; *Bull Math Biol* 1990; 52 (1/2): 99-115.
62. Hebb DO. *Organization of Behavior. A neuropsychological Theory.* Wiley: New York, 1949.
63. Rosenblatt F. The perceptron: a probabilistic model for information storage and organization in the brain. *Psychological Rev.* 1958; 65(6): 386-408.
64. Hopfield. Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79 (8): 2554-2558.
65. The Royal Swedish of Academy of Sciences. The Nobel Prize in Physics 2024. John J. Hopfield, Geoffrey E. Hinton: “for foundational discoveries and inventions that enable machine learning with artificial neural networks”; <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/2024/press-release/>
66. Han R, Yoon H, Kim G, Lee H, Lee Y. Revolutionizing medicinal chemistry: the application of artificial intelligence (AI) in early drug discovery. *Pharmaceuticals* 2023; 16: 1259 (34 pp).
67. Davies AMC. The years of the neural network. *Spectroscopy (Europe)* 1994; 6(1): 27-28; Classification by artificial neural networks. *Spectroscopy (Europe)* 1994; 6(5): 27-29; Shi Y-F, Yang, Z-X, Ma S, Kang P-L, Shan C, Hu P, Liu Z-P. Machine learning for chemistry; basics and applications. *Engineering* 2023; 27: 70-83.
68. Lu X-Y, Wu, H-P, Ma H, ..., Wang L, Ren B, Liu G-K. Deep learning-assisted spectrum-structure correlation: state of the-art and perspectives. *Anal Chem* 2024; 96 (20): 7959-7975.
69. Xue X, Sun H, Yang M, Liu X, Hu H-Y, Deng Y, Wang X. Advances in the application of artificial intelligence-based spectral data interpretation: a perspective. *Anal Chem* 2023; 95 (37): 13733-13745.
70. Smolinska A, Pellacani S, Skawinski M, Durante C. On the road to automation: a comparative review on chemometric strategies for GC-MS data analysis. *TrAC* 2025; 190: 118286 (16 pp).
71. Olivieri A, Escandar GM. Analytical chemistry assisted by multi-way calibration: a contribution to green chemistry. *Talanta* 2019; 204: 700-712.
72. Jiménez-Carvelo AM, González-Casado A, Bagur-González MG, Cuadros-Rodríguez L. Alternative data mining/ machine learning methods for the analytical evaluation of food quality and authenticity - a review. *Food Res Int* 2019; 122: 25-39.
73. Eigenvector Research Incorporated. We used to call it “Chemometrics”; <https://eigenvector.com/we-used-to-call-it-chemometrics/>
74. Duponchel L, Guerrini R, Ferreira VHC, Llamas CA, Dujardin C, Motto-Ros V. When social media empowers analytical chemists to explore millions of spectra derived from a complex sample. *Anal Chem* 2024; 96 (10): 3494-3498.
75. de Juan A, de Oliveira RR. Hyperspectral image and chemometrics. A step beyond classical spectroscopic PAT tools. *Anal Bioanal Chem* 2025; 418: 23-34.
76. Buydens L, James J. Gurus of chemometrics. *The Analytical Scientist* 2019, Dec.; <https://theanalyticalscientist.com/issues/2019/articles/dec/gurus-of-chemometrics>
77. Li S, Deng Y-Q, Zhu Z-L, Hua H-L, Tao Z-Z. A comprehensive review on radiomics and deep learning for nasopharyngeal carcinoma imaging *Diagnostics (Basel)* 2021; 11(9): 1523 (32 pp).
78. Janet JP, Kulik HJ. *Machine Learning in Chemistry.* American Chemical Society: Washington DC, 2020.
79. Odenkirk MT, Reif DM, Baker ES. Multiomic big data analysis challenges: increasing confidence in the interpretation of artificial intelligence assessments. *Anal Chem* 2021; 93 (22): 7763-7773.



80. Beck AG, Muhoberac M, Randolph CE, Beveridge CH, Wijewardhane PR, Kenthämaa HI, Chopra G. Recent developments in machine learning for mass spectrometry. *ACS Meas Sci Au* 2024; 4(3): 233-246.
81. Yadav S, Singh A, Singhal R, Yadav JP. Revolutionizing drug discovery: the impact of artificial intelligence on advancements in pharmacology and the pharmaceutical industry. *Intell Pharm* 2024; 2 (3): 367-380; Srivastava M, Nandan S, Zaidi A, ..., Khan MA, Khan MF, Shanker K, Artificial intelligence driven applications in analytical chemistry, drug discovery and food science: advancements, Outlook, and challenges. *ChemistrySelect* 2025; 10: e202404446 (29 pp); American Chemical Society (2018). Artificial Intelligence in Chemistry: The Landscape of Drug Discovery. Chemical Abstracts Service. Retrieved from <https://www.cas.org/sites/default/files/documents/ai-chemistry-landscape.pdf>
82. Visan AI, Negut I. Integrating artificial intelligence for drug discovery in the context of revolutionizing drug delivery. *Life* 2024; 14 (2): 233 (36 pp).
83. Flanagan AR, Dalal D, Glarin FG. Exploring generative artificial intelligence and data augmentation techniques for spectroscopic analysis. *Chem Rev* 2025; 125 (13): 6130-6155.
84. Workman J, Recent research in chemometrics and AI for spectroscopy. Part I: Foundations, definitions, and the integration of artificial intelligence in chemometrics analysis 2025, November 3, Workman J, Recent research in chemometrics and AI for spectroscopy. Part II: emerging applications, explainable AI, and future trends *Spectroscopy* 2025, November 4.
85. Joshi PB. Navigating with chemometrics and machine learning in chemistry. *Artificial Intell Rev* 2023; 56: 9089-9114; Houhou R, Bocklitz T. Trends in artificial intelligence, machine learning, and chemometric applied to chemical data. *Anal Sci Adv* 2021; 2 (3-4): 128-141; Baum ZJ, Yu X, Ayala PY, Zhao Y, Watkins SP, Zhou Q. A Survey of Artificial Intelligence in Chemistry. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2021; 61(7): 3197-3212.
86. Fuentes-Ballesteros A, Samanidou V, Daryanavard S, Ares AM, Bernal J. Artificial intelligence as a scientific copilot in analytical chemistry: transforming how we write, review, and publish. *Anal Chem* 2025; 97 (38): 20667-20672; Hussain CM, Hussain G, Keçili R. Smart analytical chemistry: integrating green, sustainable, white and AI-driven approaches in modern analysis. *TrAC* 2025; 191: 118295 (14 pp); Mousavizadegan M, Firoozbakhtian A, Hosseini M, Ju H. Machine learning in analytical chemistry. From synthesis of nanostructures to their applications in luminescence sensing. *TrAC* 2023; 167: 117216 (19 pp); Debus B, Parastar H, Harrington P, Kirsanov D. Deep learning in analytical chemistry. *TrAC* 2021; 143: 116459 (11 pp); Ayres LB, Gomez FJV, Linton JR, Silva MF, Garcia CD. Talking the leap between analytical chemistry and artificial intelligence: a tutorial review. *Anal Chim Acta* 2021; 1161: 338403 (19 pp)
87. Janet JP. Machine Learning in Chemistry now and in the future. *ACS in Focus*; <https://axial.acs.org/cross-disciplinary-concepts/machine-learning-in-chemistry-now-and-in-the-future>
88. Low D. The psychology of our future with AI. *Chemistry World* 2023, February; <https://www.chemistryworld.com/opinion/the-psychology-of-our-future-with-ai/4016835.article>
89. Innovation Center Silicon Valley. Proliferation of AI across industries: the driving force behind next-gen industrial and economic revolution; <https://siliconvalley.center/blog/proliferation-of-ai-across-industries>
90. Kolluri S, Lin J, Liu R, Zhang Y, Zhan W. Machine learning and artificial intelligence in pharmaceutical research and development: a review. *The AAPS Journal* 2022; 24(1):19 (10 pp).

Si desea citar nuestro artículo:

Quimiometría e Inteligencia Artificial: Encuentros en la primera fase

Agustín García Asuero, FRSC

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 92. nº 2 (2026) · pp. 159-182

DOI:<http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.01.03>



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Efecto del consumo materno de fructosa en la metilación de componentes celulares: fosfolípidos, glicina y promotores de genes (epigenética)**Effect of maternal fructose consumption on the methylation of cellular components: phospholipids, glycine and gene promoters (epigenetics)**

Ana Bernal Romanillos; Elena Fauste Alonso; Madelin Pérez Armas; Cristina Donis Rodríguez; Paola Otero Gómez; María Isabel Panadero Antón; Carlos Bocos de Prada

Universidad CEU San Pablo. Departamento de Química y Bioquímica

e-mail: ipanade@ceu.es

Trabajo ganador del Premio GSK en el Concurso Científico 2025 de la RANF

Recibido el 3 de octubre de 2025; aceptado el 12 de diciembre de 2025

Disponible en internet el 30 de junio de 2026

PALABRAS CLAVE

Fructosa
Gestación
Programación fetal
Síndrome
Metabólico
Metabolismo de un
carbono
Epigenética dieta
occidental

RESUMEN

El consumo de fructosa se ha disparado en los últimos años por su uso como edulcorante añadido a bebidas azucaradas y otros alimentos manufacturados. Esto resulta alarmante considerando que se trata de una molécula altamente lipogénica, relacionada estrechamente con la aparición de enfermedad cardiovascular (ECV) y síndrome metabólico (SM). Asimismo, la exposición prenatal a fructosa se ha vinculado al desarrollo de factores de riesgo para ECV y SM en la descendencia. Esto se debe a la programación fetal, un fenómeno mediado por mecanismos epigenéticos como la metilación, englobada en el metabolismo de un carbono.

Teniendo en cuenta que en estudios anteriores comprobamos cómo la ingesta pre y postnatal de fructosa alteraba la expresión de varios genes del metabolismo de un carbono, los objetivos de este estudio fueron: determinar si el consumo de fructosa en animales jóvenes alteraba la expresión de las metiltransferasas (DNMTs, Pemt y GNMT) y comprobar si dichas modificaciones eran específicas del consumo de fructosa (comparando con tagatosa) y el efecto de añadir colesterol a la dieta, como un modelo de dieta occidental. Finalmente, estudiar el efecto del consumo de fructosa durante la gestación sobre la metilación de promotores génicos en la descendencia.

El consumo de fructosa aumentó la metilación del promotor de la CSE hepática, disminuyendo su expresión, mediante el potencial aumento de la actividad de las DNMTs por la existencia de bajos niveles de SAH. Esta hipermetilación no se observó cuando la descendencia había estado expuesta a fructosa durante el embarazo, lo que confirmaría que se trata de un factor intrauterino que promueve la programación fetal. Cuando el

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto

**KEYWORDS**

Fructose
Gestation
Fetal programming
Metabolic syndrome
One-carbon
metabolism
Epigenetics
Western diet

consumo de fructosa se asoció a colesterol (dieta occidental), la expresión de DNMT3a y DNMT3b disminuyó y los niveles de SAH aumentaron, promoviendo la hipometilación del promotor de CPT1 y el consecuente aumento de la expresión de la enzima. Por último, el consumo de una dieta occidental también afectó a la metilación de otros componentes celulares, dado que redujo la expresión de Pemt y GNMT, implicados en la metilación de fosfolípidos y glicina.

En definitiva, los resultados obtenidos muestran que el consumo pre y postnatal de fructosa afecta a la metilación de componentes celulares: promotores génicos, fosfolípidos y glicina; alterando el metabolismo y potencialmente favoreciendo el desarrollo de diversas patologías.

ABSTRACT

Fructose consumption has skyrocketed in recent years due to its use as a sweetener added to sugary drinks and other manufactured foods. This is alarming considering that it is a highly lipogenic molecule, closely related to the onset of cardiovascular disease (CVD) and metabolic syndrome (MS). In addition, prenatal exposure to fructose has been linked to the development of risk factors for CVD and MS in offspring. This is due to fetal programming, a phenomenon mediated by epigenetic mechanisms such as methylation, encompassed in the metabolism of a carbon.

Considering that in previous studies we tested how pre- and postnatal fructose intake altered the expression of several genes of one-carbon metabolism, the objectives of this study were: to determine if fructose consumption in young animals altered the expression of methyltransferases (DNMTs, Pemt and GNMT) and to verify if these modifications were specific to fructose consumption (compared to tagatose) and the effect of adding cholesterol to the diet, as a model of Western diet. Finally, to study the effect of fructose consumption during gestation on the methylation of gene promoters in the offspring.

Fructose consumption increased the methylation of the hepatic CSE promoter, decreasing its expression, through the potential increase in the activity of DNMTs due to the existence of low levels of SAH. This hypermethylation was not observed when the offspring had been exposed to fructose during pregnancy, which would confirm that it is an intrauterine factor that promotes fetal programming. When fructose consumption was associated with cholesterol (Western diet) the expression of DNMT3a and DNMT3b decreased and SAH levels increased, promoting the hypomethylation of the CPT1 promoter and the consequent increase in the expression of the enzyme. Finally, the consumption of a Western diet also affected the methylation of other cellular components, since it reduced the expression of Pemt and GNMT, involved in the methylation of phospholipids and glycine.

In short, the results obtained show that pre- and postnatal fructose consumption affects the methylation of cellular components: gene promoters, phospholipids and glycine; altering metabolism and potentially favoring the development of various pathologies.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Evolución de los patrones de consumo de fructosa

La fructosa es un monosacárido presente en frutas, verduras y miel, tanto en su forma libre, como asociado a glucosa para formar la sacarosa. Por tanto, siempre ha sido un componente básico de nuestra dieta, pero sus patrones y frecuencia de consumo han cambiado notablemente en los últimos años (1). El consumo de fructosa ha aumentado exponencialmente por su uso como edulcorante en forma de jarabe de maíz rico en fructosa (del inglés, *High-fructose corn syrup*, HFCS), destacando su presencia en bebidas azucaradas y alimentos procesados (2). Debido a su elevado poder edulcorante, propiedades organolépticas y bajo coste, el uso industrial del HFCS se ha disparado, incrementándose el consumo anual por persona en Estados Unidos de 0,23 kg en los 1970s a 28,4 kg en los 2000s. Dicho consumo se ha relacionado con mayor riesgo de desarrollar síndrome metabólico (SM), enfermedades cardiovasculares (ECV) y obesidad (3,4).

1.2. Dietas: fructosa, tagatosa y dieta occidental

De forma similar al consumo de fructosa, existen otros tipos de dietas que favorecen el riesgo a desarrollar enfermedades no transmisibles relacionadas con la nutrición. En este trabajo determinamos los efectos que estas dietas pueden ejercer sobre la fisiología del organismo, incluyendo la modulación de la expresión de proteína y la metilación del material genético (5,6).

En primer lugar, se compararon los efectos del consumo de fructosa con los de su epímero estructural: la tagatosa, un edulcorante considerado como seguro. Su menor contenido calórico, menor índice glucémico, y elevado poder edulcorante hacen que su popularidad se haya incrementado en los últimos años. La

tagatosa no presenta afinidad por el transportador de carbohidratos del intestino delgado implicado en la absorción de azúcares, de manera que solo un 20-25% de la tagatosa es absorbida y el resto es utilizado por la microbiota como sustrato fermentable, razón por la que se considera un prebiótico (7,8). Asimismo, este monosacárido se asocia con un potencial efecto antidiabético, pues su consumo se ha relacionado con una disminución de los niveles postprandiales de glucosa (9).

No obstante, también se consideró el consumo de fructosa asociado a la ingesta de colesterol, representando la dieta occidental (del inglés, *Western Diet*, WD) un patrón de dieta actual propio de los países occidentales. La WD proporciona un elevado aporte calórico de baja calidad nutricional, caracterizándose por una ingestión reducida de frutas y verduras, frente a un consumo elevado de colesterol, grasas saturadas y azúcares añadidos (10). Esta dieta se ha asociado a una amplia variedad de enfermedades crónicas no transmisibles como la obesidad, diabetes y ECV, dado que altera el metabolismo lipídico y promueve un estado de inflamación en el organismo (11).

1.3. Metabolismo de la fructosa y enfermedad cardiovascular

Las generaciones más jóvenes están cada vez más expuestas a altas concentraciones de azúcares, en particular fructosa, lo cual es alarmante dada su relación con el desarrollo de ECV y SM. Estas enfermedades no transmisibles aparecen como resultado de la compleja interacción entre factores genéticos y ambientales, destacando el papel del metabolismo lipídico en su desarrollo (12). Las ECV, un conjunto de patologías crónicas y heterogéneas que afectan al corazón y al sistema circulatorio, son la principal causa de mortalidad global, representando en 2021 en torno a 1/3 de las muertes en la Unión Europea (13,14). El SM es un trastorno caracterizado por la presencia de varios factores de riesgo cardiovascular que aumentan la probabilidad de



padecer patologías potencialmente mortales como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y diabetes tipo II (15,16). Según el *Adult Treatment Panel III* (ATP III), se diagnostica SM si se presentan al menos tres de las siguientes alteraciones: obesidad abdominal, hipertensión, hiperglucemia en ayunas, hipertrigliceridemia y bajos niveles de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) (17).

Según estudios observacionales, el consumo de fructosa es un factor de riesgo para la aparición de enfermedades crónicas en humanos. Asimismo, numerosos modelos animales han relacionado las dietas enriquecidas con fructosa con la manifestación de ECV y SM (18-20). Esto se debe al carácter altamente lipogénico de dicho azúcar, implicado en el desarrollo de dislipidemia, obesidad, resistencia a insulina y a leptina, hipertensión e hiperuricemia (2,21). La diferente estructura química de la glucosa (aldohexosa) y la fructosa (cetohehexosa) explica las diferencias en su absorción y metabolismo. Mientras que el metabolismo de la glucosa está altamente regulado, la fructólisis o metabolismo de la fructosa presenta una menor regulación, afectando negativamente al metabolismo lipídico (1,22).

En torno a un 70-80% de la fructosa se metaboliza en el hígado, donde se transforma en fructosa-1-fosfato y es escindida en gliceraldehído y dihidroxiacetona (DHAP). Estas dos moléculas pueden ser convertidas en glucosa a través de la gluconeogénesis, que puede utilizarse para la síntesis de glucógeno (2). El gliceraldehído puede fosforilarse a gliceraldehído-3-fosfato (G3P) y convertirse en piruvato, que se descarboxila para rendir acetil-CoA. Esta molécula puede entrar en el ciclo del ácido cítrico (CAC) o ser precursor para la síntesis de ácidos grasos (AG). Por su parte, la DHAP puede transformarse en glicerol-3-fosfato que, junto con los AG, forma triglicéridos (TG) (23). Por el contrario, en el metabolismo de la glucosa intervienen la glucoquinasa y la fosfofructoquinasa-1, implicadas en la regulación de la ruta y que limitan la cantidad de acetil-CoA destinado a la síntesis de AG (24).

Por tanto, la fructosa constituye una fuente de triosas - fosfato involucradas en la síntesis de lípidos *de novo*, gluconeogénesis y gluco-genogénesis (25). Como su metabolismo no está regulado, el CAC no es capaz de metabolizar el exceso de acetil-CoA generado tras la fructólisis, lo que promueve la síntesis de AG y TG en mucha mayor medida que la glucosa (26). Como resultado, el consumo de fructosa se relaciona con hipertrigliceridemia y un aumento de los niveles de TG en el hígado, favoreciendo el desarrollo de esteatosis y la secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (27). La alteración del metabolismo lipídico afecta también a los niveles de colesterol total y colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL), dando lugar a una situación de dislipemia (28).

1.4. Consumo prenatal de fructosa y programación fetal

La teoría del desarrollo temprano de la salud y la enfermedad (del inglés, *developmental origins of health and disease*, DOHAD) sugiere que las exposiciones nutricionales inadecuadas durante tres periodos críticos (preconcepción, embarazo y lactancia) juegan un papel fundamental en el desarrollo de obesidad y otras enfermedades metabólicas en la descendencia. Esto añade una dimensión adicional de complejidad al estudio de la etiología de las enfermedades cardiovasculares y el síndrome metabólico, explicando por qué el estudio de los factores de riesgo biológicos junto con los hábitos de vida adulta es insuficiente para predecir la aparición de ECV (29,30). Originalmente, la DOHAD se centraba en la desnutrición materna, pero cada vez son más numerosos los estudios que ponen el foco en determinar cómo patrones inadecuados de consumo de macro- y micronutrientes durante la etapa prenatal son capaces de promover el desarrollo de obesidad y otros factores de riesgo para la aparición de ECV en la descendencia (29,31).



Recientemente, varios estudios realizados en ratas han relacionado la exposición prenatal a fructosa con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles en la descendencia durante su vida adulta, como obesidad, diabetes tipo II y resistencia a insulina (32). La literatura muestra diferentes resultados en función del género, con efectos más pronunciados en los machos, razón por la que el presente estudio se ha centrado en este género (33,34). Los efectos perjudiciales asociados al consumo de fructosa durante el embarazo son resultado de un fenómeno conocido como programación fetal, que es el conjunto de adaptaciones que experimenta el embrión cuando está sometido a un entorno intrauterino estresante y que favorecen el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas durante la vida adulta (35).

1.5. Epigenética: metilación de promotores relacionados con el metabolismo lipídico

La epigenética es el mecanismo subyacente que explica las adaptaciones que tienen lugar como resultado de la exposición prenatal a fructosa, y se define como los cambios heredables en la expresión génica que tienen lugar sobre la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN) y cromatina sin afectar a la secuencia de ADN (36). Dentro de estas modificaciones epigenéticas se encuentra la metilación, que consiste en la incorporación de un grupo metilo, generalmente a la citosina, cuando esta se encuentra formando un dinucleótido con la guanina (CpG) (37).

Las regiones del genoma con un elevado número de repeticiones CpG reciben el nombre de islas CpG, y son especialmente susceptibles de ser metiladas. Estas son abundantes en los promotores génicos, teniendo un papel fundamental en la regulación de su expresión (38). Un mayor estado de metilación se suele relacionar con una menor expresión del gen afectado, dado que los grupos metilo ejercen un impedimento estérico que dificulta el acceso de la maquinaria de transcripción. Por tanto, la metilación se trata de un fenómeno funda-

mental para controlar múltiples procesos fisiológicos como la diferenciación celular, la impronta genómica o la inactivación del cromosoma X (39).

Las DNA-metiltransferasas (DNMTs) son las enzimas responsables de la metilación de la citosina. Por un lado, la DNA-metiltransferasa 3a (DNMT3a) y la DNA-metiltransferasa 3b (DNMT3b) establecen patrones de metilación *de novo* durante la embriogénesis temprana y gametogénesis; mientras que la DNA-metiltransferasa 1 (DNMT1) mantiene los patrones de metilación existentes durante la mitosis (40). La expresión y actividad de las DNMTs se encuentra finamente regulada a muchos niveles, desde la transcripción hasta el nivel posttraduccional. En concreto, la regulación metabólica de la metilación del DNA comprende la regulación locus-dependiente, mediada por factores de transcripción; y aquella mediada por los niveles de metabolitos centrales, como es el caso de SAM (S-adenosilmetionina), sustrato de estas enzimas (41).

Factores que alteran la expresión o actividad de las DNMTs favorecen el establecimiento de patrones de metilación aberrantes, los cuales se relacionan con patologías como el cáncer o ECV. Aunque estos cambios en la metilación pueden ocurrir a lo largo de la vida adulta, la mayor parte del epigenoma se establece durante el desarrollo temprano del feto, tratándose de un periodo crítico durante el cual factores nutricionales pueden afectar notablemente a los patrones de metilación (42,43). De hecho, el metabolismo lipídico hepático es especialmente sensible a la regulación epigenética, existiendo numerosos estudios que relacionan la exposición prenatal a fructosa con la alteración de la metilación de promotores lipídicos en la descendencia (29). En concreto, la ingesta materna de fructosa durante el embarazo se ha relacionado con la hipermetilación de los promotores del receptor nuclear activado por proliferadores peroxisomales (PPAR α) y del receptor X hepático alfa (LXR α) (32,33,44), así como con un mayor nivel de metilación general del ADN mitocondrial (45).



1.6. Otras enzimas implicadas en la metilación

Al igual que las DNMTs están implicadas en la metilación del ADN, existen otras enzimas que llevan a cabo procesos de metilación de componentes celulares diferentes al material genético. Este es el caso de la fosfatidiletanolamina N-metiltransferasa (Pemt), localizada en los hepatocitos e implicada en el metabolismo de los fosfolípidos. En concreto, cataliza la conversión de fosfatidiletanolamina (PE) a fosfatidilcolina (PC) mediante la transferencia de tres grupos metilos aportados por SAM, siendo responsable de la producción de un 30% de la PC del organismo (46,47). Además de su función estructural en las membranas celulares, la PC favorece la solubilización de los ácidos biliares en la bilis y la secreción de quilomicrones y VLDL (48). Como resultado, la alteración de los niveles de PC por disfunción de Pemt se asocia con el desarrollo de patologías. Una menor actividad de Pemt se ha relacionado con menores niveles de PC, menor secreción de lípidos, acumulación de TG en el hígado y, como resultado, desarrollo de hígado graso no alcohólico (6,49).

Por otro lado, la glicina N-metiltransferasa (GNMT) es una enzima implicada en la metilación de la glicina para formar sarcosina, utilizando SAM como donante de metilos. Esta enzima desempeña un papel fundamental en la regulación de la relación SAM/SAH (S-adenosilhomocisteína) en mamíferos, por lo que está implicada en la disponibilidad de metilos y su utilización por otras metiltransferasas, evitando fenómenos de metilación aberrante (50,51). Mutaciones en humanos afectando al gen de la GNMT y modelos animales *knock-out* para GNMT se han relacionado con un incremento en los niveles séricos de metionina y SAM, y con el desarrollo de patologías hepáticas como esteatosis y fibrosis (52).

1.7. Metabolismo de un carbono

SAM es la molécula utilizada por las DNMT, Pemt y GNMT como donante universal de grupo metilos y forma parte del ciclo de la metionina, englobado dentro de la ruta del metabolismo de un carbono. Esta ruta se divide en el ciclo del folato y el ciclo de la metionina, ligados a la transulfuración y conectados para facilitar la transferencia de un residuo de un carbono para la metilación del ADN y síntesis de macromoléculas (53). Tal y como se muestra en la *Figura 1*, el ciclo del folato comienza con el ácido fólico, que experimenta una serie de transformaciones bioquímicas para convertirse en 5-metil-tetrahydrofolato (5-metil-THF). Dicha molécula sirve como donante de metilos para la conversión de la homocisteína a metionina gracias a la acción de las enzimas metionina sintasa (MTR) y metionina sintasa reductasa (MTRR). En mamíferos, la remetilación de la metionina también se puede llevar a cabo por la enzima betaína-homocisteína metiltransferasa (BHMT) (53). A continuación, la metionina es adenilada por la enzima metionina adenosiltransferasa (MAT1A) para generar SAM. Este proceso tiene lugar mayoritariamente en el hígado, donde se metaboliza el 50% de la metionina (6,53). Una vez es utilizado por las metiltransferasas como sustrato, SAM pasa a convertirse en SAH. La SAH hidrolasa (AHCY) transforma SAH en homocisteína, que se puede convertir en metionina, tal y como se ha mencionado anteriormente. La relación SAM/SAH debe estar estrechamente regulada para evitar fluctuaciones que puedan derivar en alteraciones de diversos procesos fisiológicos llevados a cabo por las metiltransferasas, así como en patologías hepáticas como hígado graso no alcohólico o cirrosis (54). Asimismo, la homocisteína puede ser eliminada a través de la vía de la transulfuración, generando sulfuro de hidrógeno (H₂S) y cisteína como productos por acción de las enzimas cistationina gamma liasa (CSE) y cistationina beta sintasa (CBS) (53,55).

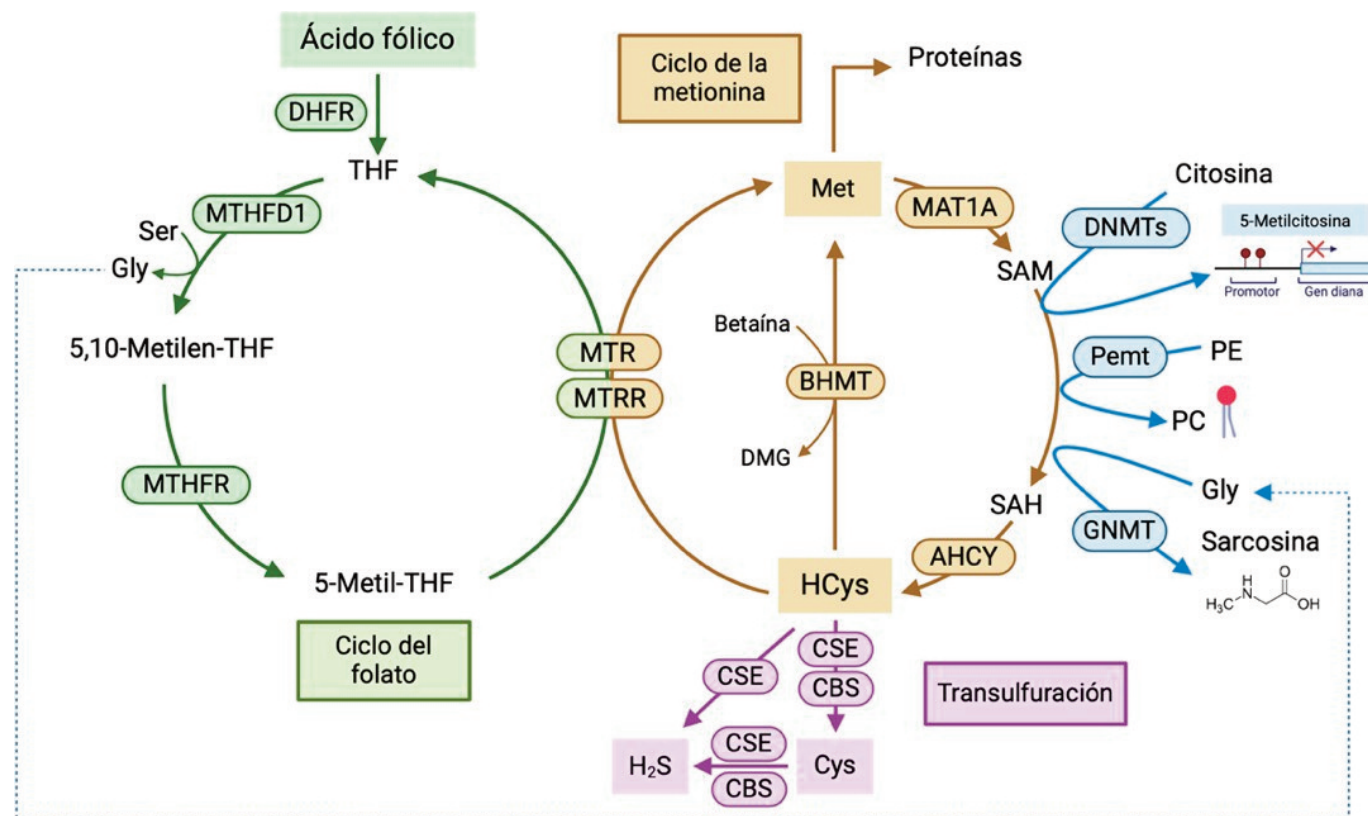


Figura 1. Metabolismo de un carbono (ciclo del folato + ciclo de la metionina), vía de la transulfuración y metilación de componentes celulares. AHCY (SAH hidrolasa); BHMT (betaína-homocisteína metiltransferasa); CBS (cistationina beta sintasa); CSE (cistationina gamma liasa); Cys (cisteína); DHF (dihidrofolato); DHFR: (dihidrofolato reductasa); DMG (dimetilglicina); DNMTs (DNA-metiltransferasas); GNMT (glicina N-metiltransferasa); H₂S (sulfuro de hidrógeno); MAT1A (metionina adenosiltransferasa); MTHFD1 (metilen-THFdeshidrogenasa-1); MTHFR (metilen-THF-reductasa); MTR (metionina sintasa); MTRR (metionina sintasa reductasa); Pemt (fosfatidiletanolamina N-metiltransferasa); SAH (S-adenosilhomocisteína); SAM (S-adenosilmetionina); THF (tetrahidrofolato). Figura realizada con BioRender.

Considerando que el metabolismo de un carbono está estrechamente ligado a otras rutas metabólicas, la nutrición de la gestante puede afectar a la expresión y/o actividad de sus enzimas y alterar el epigenoma de la descendencia. Por tanto, el metabolismo de un carbono podría tratarse del vínculo entre la dieta, el metabolismo y la epigenética (54).

2. HIPÓTESIS

El consumo de fructosa durante el embarazo se asocia con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles en la descendencia a lo largo de la edad adulta, como enfermedades cardiovasculares, diabetes y obesidad.

Estas alteraciones se deben al fenómeno de la programación fetal, producido por el establecimiento de marcas epigenéticas en el material genético de la descendencia. Dentro de estas marcas epigenéticas se encuentra la metilación, muy relacionada con el metabolismo de un carbono. En estudios anteriores hemos comprobado cómo el consumo pre- y postnatal de fructosa altera la expresión de algunos genes involucrados en dicha ruta metabólica. Esto podría derivar en cambios en los niveles de metabolitos que actúan como donantes o receptores de metilos, afectando a la actividad de las enzimas metiltransferasas (DNMTs, Pemt y GNMT). Consecuentemente, alteraciones de la actividad de las DNMTs se relaciona-



ría con cambios en la metilación de promotores génicos y, en última instancia, con cambios en la expresión de las enzimas reguladas por dichos patrones epigenéticos. En el presente estudio se consideró el efecto del consumo prenatal de fructosa sobre la ruta del metabolismo de un carbono, así como las consecuencias del consumo directo de diversos tipos de dieta, que incluyen fructosa, tagatosa o dieta occidental.

3. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta los antecedentes descritos, los objetivos de este estudio fueron:

- Determinar si el consumo de fructosa en animales jóvenes genera alteraciones en la expresión de enzimas implicadas en la metilación del ADN (DNMTs) y otras metiltransferasas.
- Comprobar si dichas modificaciones son específicas del consumo de fructosa, utilizando la tagatosa como epímero de la fructosa.
- Estudiar si los efectos producidos por la fructosa se ven aumentados, disminuidos o invariables al añadir colesterol a la dieta, como un modelo de dieta occidental.

- Estudiar si el consumo de fructosa durante el embarazo se asocia con alteraciones en la metilación de promotores génicos en la descendencia.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño experimental

El diseño experimental (*Figura 2*) fue aprobado por el Comité Ético. Se utilizaron hembras de rata Sprague-Dawley alimentadas *ad libitum* con una dieta estándar para ratas (B&K Universal, Barcelona, España) que se cruzaron con machos de la misma cepa y se dividieron en dos grupos en función de la bebida recibida durante la gestación: madres control (agua) y madres fructosa (agua con fructosa al 10% (p/v)). Tras el parto, las camadas se ajustaron a 9 crías y, durante la lactancia, tanto las madres como su descendencia bebieron agua sin aditivos. Al finalizar este período, se seleccionaron las crías macho y se dejaron crecer hasta los 3 meses, edad a la que se inició el tratamiento dietético. Para ello, se dividieron en cuatro grupos distintos según la bebida y/o ingesta que recibirían durante los siguientes 21 días.

Se obtuvieron así, 8 grupos experimentales, donde la primera letra hace referencia a la

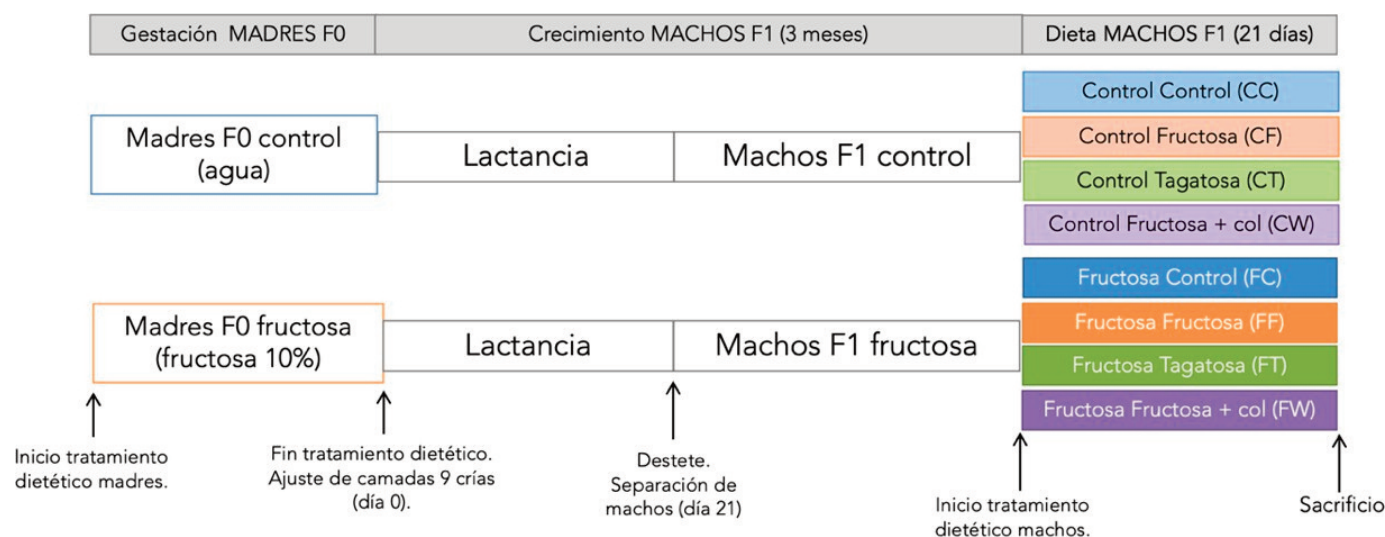


Figura 2. Diseño experimental



dieta de la madre durante la gestación y la segunda a la dieta consumida por la descendencia joven macho:

- Grupo Control (CC y FC): dieta sólida estándar y agua sin aditivos.
- Grupo Fructosa (CF y FF): dieta sólida estándar y agua con fructosa al 10% (p/v).
- Grupo Tagatosa (CT y FT): dieta sólida estándar y agua con tagatosa al 10% (p/v).
- Grupo Fructosa + Colesterol o Dieta Occidental (CF+Col y FF+Col): dieta sólida estándar con un 2% de colesterol añadido y agua con fructosa al 10% (p/v).

A los 21 días de tratamiento dietético, las ratas fueron sacrificadas. Se tomaron muestras de tejidos y sangre para determinar parámetros tisulares y plasmáticos.

4.2. Determinación de la expresión génica

Para la determinación de la expresión génica fue necesario extraer el ARN, tratarlo con DNAsas y transformarlo posteriormente en ADN complementario antes de proceder a realizar la PCR a tiempo real. Para la extracción del ácido ribonucleico (ARN), se realizó un homogenizado del tejido, el cual se trató con BCP (bromocloropropano) y se sometió a centrifugación. Para purificar el ARN se utilizó el kit RiboPure™ (Ambion Inc., EE. UU.). La concentración y pureza del ARN purificado se determinaron utilizando el NanoDrop™, comprobando que las relaciones 260/280 y 260/230 se encontraban en el margen adecuado (1,8-2,2). Asimismo, mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% se comprobó la integridad del ARN (visualizando las bandas correspondientes al ARN ribosómico).

El ARN purificado se trató con DNAsas para eliminar posibles contaminaciones, utilizando el kit Turbo DNA-free™ (Invitrogen, ThermoFisher, EE. UU.), y la pureza, concentración e integridad del ARN tratado se determinaron nuevamente. A continuación, se llevó a cabo una PCR convencional para comprobar la ausencia de ADN contaminante, utilizando primers del gen constitutivo de la proteína

ribosómica S-29 (RPS29) (*Tabla I*). La ausencia de ADN se comprobó a través de una electroforesis en gel de agarosa al 2%, observándose únicamente la banda del control positivo. El ARN tratado con DNAsas fue sometido a la acción de la transcriptasa inversa (RT) para obtener ADN complementario (ADNc). Se utilizó la transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen, EE. UU.). Para comprobar la obtención de ADNc, se amplificó mediante PCR convencional una secuencia del gen RPS29 (*Tabla I*), y el producto de amplificación se visualizó a través de electroforesis en gel de agarosa al 2%.

La expresión de los genes de interés (RPS29, DNMT1a, DNMT3a, DNMT3b, GNMT, Pemt, CSE, CPT1) se determinó a través de PCR a tiempo real (Q-PCR), empleando el ADNc obtenido y los *primers* recogidos en la *Tabla I* y utilizando el termociclador CFX96 Touch Real time PCR System (Biorad, EE. UU.). La cuantificación de la expresión se realizó mediante el método $2^{-\Delta\Delta C_p}$, por el que el valor de C_p (número de ciclos necesarios para superar el umbral de detección del equipo) obtenido es ajustado para el gen de interés utilizando como referencia el C_p del gen constitutivo RPS29 para esa misma muestra (55).

Previamente, fue necesario realizar rectas de calibrado de los genes estudiados mediante Q-PCR, para lo que se utilizaron diluciones seriadas de ADNc. El objetivo fue comprobar la eficiencia de los primers (E), cuyo valor numérico se encontró dentro del margen (1,8-2,2) y fue utilizado en los cálculos de expresión.

4.3. Determinación de la metilación de promotores

La determinación del nivel de metilación de promotores génicos se llevó a cabo según el protocolo descrito por Oakes *et al.* (56). Para la lisis, extracción y purificación del ADN se empleó el Kit DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, EEUU). Muestras de, aproximadamente, 25 mg de hígado se lisaron mediante incubación con buffer ALT y proteínasa K. A continuación, se eliminó el ARN contaminante

con RNasa A y se adicionó un buffer de lisis AL con tiocianato de guanidinio (inactiva las DNasa y RNasa A y elimina las proteínas). Por último, se obtuvo el ADN libre de contaminantes gracias a una columna de purificación.

El ADN purificado se dividió en dos alícuotas para cada una de las muestras estudiadas, una de las cuales se trató con la enzima de restricción McrBC (Takara Bio Inc., Japón). McrBC es una enzima de restricción que reconoce como secuencia diana 5'AC(Nn)GC3' y que únicamente es capaz de cortar cuando las citosinas de dicha secuencia están metiladas. Para ello, 1µg de ADN se trató con 1µL de McrBC, 2µL buffer 10X, 2µL de seroalbúmina bovina (BSA) 0,1%, 0,2 µl de GTP 100 mM y agua ultrapura estéril hasta completar el volumen a 20µl. La mezcla se incubó a 37°C (temperatura óptima de la enzima) durante 16h y posteriormente se inactivó la enzima a 56°C durante 20 minutos. La otra alícuota permaneció sin tratar, empleándose como control no tratado, de manera que se añadió 1µL extra de buffer 10X en lugar de 1µL de McrBC.

La determinación de la concentración y pureza de del ADN purificado se llevó a cabo empleando NanoDrop® One (ThermoFisher., EEUU). Para comprobar que el tratamiento con la enzima fue satisfactorio, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2%. En la *Figura 3* se aprecia cómo las muestras no tratadas dan lugar a una única banda diferenciada, mientras que las muestras tratadas se corresponden con una estela que representa el ADN cortado en múltiples sitios por la enzima.

A continuación, para determinar el nivel de metilación de los promotores, se realizó una Q-PCR empleando tanto la alícuota de ADN tratado con McrBC como la alícuota sin tratar. Para ello, se diseñaron primers (*Tabla I*) que flanquean regiones con una alta proporción de CG, susceptibles de formar parte de islas CpG y ser metiladas. El diseño de los *primers* requirió, en primer lugar, buscar la secuencia del gen de interés en la base de datos *Gene Bank*, perteneciente al *National Center for Biotechnology Information* (NCBI, EEUU). Dicha secuencia, junto con aproximadamente unos 1000 pares de bases *upstream* de la misma, se introdujeron en el programa informático MethPrimer, que identifica las regiones con una alta proporción de CG, con mayor posibilidad de formar parte de una isla CpG del promotor (57).

A continuación, la secuencia sugerida por MethPrimer fue introducida en el programa Primer Blast (NCBI), especificando los parámetros óptimos para la obtención de los *primers*. Una vez obtenidas varias posibles parejas, fue necesario analizar la secuencia amplificada por cada una de ellas, comprobando, en primer lugar, que la secuencia diana estaba presente (en la hebra codificante o en la no codificante); y, además, que la secuencia diana no apareciese en la secuencia de los cebadores. Teniendo en cuenta dichos criterios, se escogió una pareja de *primers* para cada promotor (*Tabla I*).

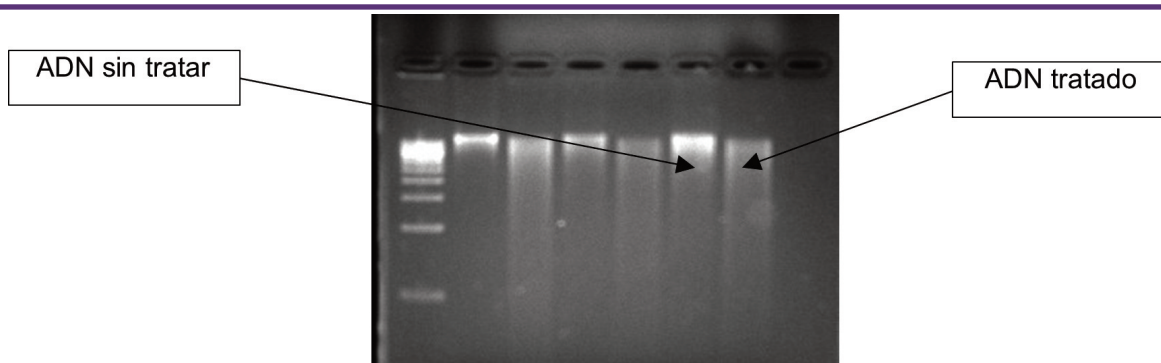


Figura 3. Gel de electroforesis del ADN sin tratar y tratado con McrBC. Las muestras control no tratado se ven como bandas nítidas sin degradar, mientras que las tratadas presentan una estela a lo largo del carril debido a los múltiples cortes del ADN.



Tabla I. Primeros empleados para amplificar el ARNm y para determinar el nivel de metilación de promotores en *Rattus Novergicus*.

Gen	Primers	Amplicón (pb)	NCBI	Procedencia	Tm (°C)
RPS29	F TGAAGGCAAGATGGGTACCAGCAGC R CAGGGTAGACAGTTGGTTTCATTGGG	236	X59051	Clontech	68
DNMT1	F CCCGAGCATTACCGCAAGTA R TAGAGCAGGTTGATGTCGGC	221	NM_053354.3	Primer Blast	60
DNMT3a	F CTTCTCTGAAGCCCTCGCAG R TGACGCTCTTCCTTACCACG	180	NM_001003958.1	Primer Blast	60
DNMT3b	F AATTACACGCAGGACGTGGT R GGGGAGGTTCTTTGCCTCTC	185	NM_001396349.1	Primer Blast	60
GNMT	F GTACAAGGCGTGGTTGCTTG R TGACAGCGTCAAAGCCATCT	272	NM_017084.1	Primer Blast	60
Pemt	F CTGAGTTCATCACCAGGGACA R AGCAGCCAGCTCATAACGAA	100	NM_013003.2	Primer Blast	60
CSE	F GTATGGAGGCACCAACAGGT R GTTGGGTTTGTGGGTGTTTC	150	NM_017074.1	-58	60
CPT1	F CCGATGGCATTGACCTCCGCCTG R GTCTAGGGTCCGACTGATCTTTGCG	230	L07736	Clontech	68
GR (Met)	F CCTTGCAGTTGCCGACAG R CGTCTTGTTCCACCCACT	303	AJ271870.1	Primer3	55
CSE (Met)	F TAGGGGCAACACCTCCACT R AGTGTGTGGCTTTGGCTAGTAA	119	NC_005101.4	Primer Blast	60
CPT1 reg 1 (Met)	F CTGGTATCACCTTTGGGAG R GCCCTCTGCTTCTCCAAT	85	AF020776.2	-45	56
CPT1 reg 2 (Met)	F CATTGGAGAAGCAGAGGGC R TGGGGACCAAGCATCTTTC	85	AF020776.2	-45	58

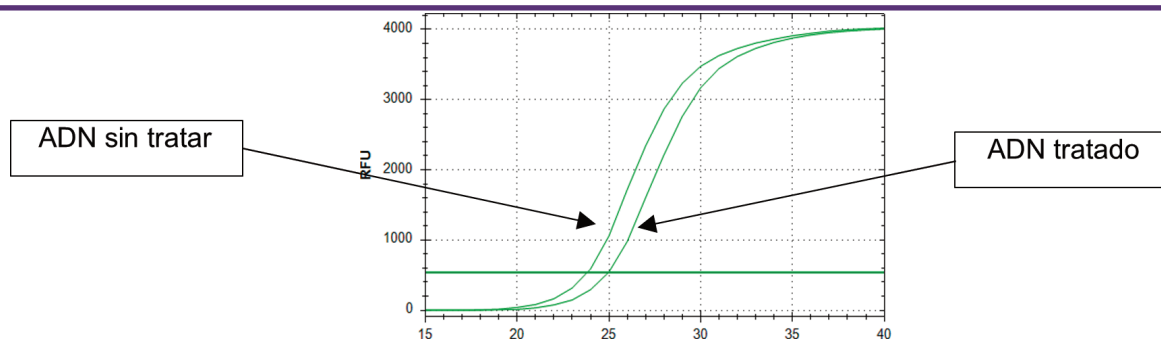


Figura 4. Curva de amplificación por PCR a tiempo real de una muestra de ADN tratado (derecha) y sin tratar (izquierda).

Por tanto, un alto nivel de metilación en dichas regiones del promotor permite que la enzima McrBC reconozca la diana y corte el ADN en dicha localización, impidiendo la acción de la polimerasa y la amplificación por PCR de dicha región. Como resultado, las muestras tratadas con McrBC en las que dichas regiones estén metiladas se relacionarían con mayores valores de Cp obtenidos tras la Q-PCR en comparación con las muestras no tratadas. El termociclador utilizado para la amplificación fue CFX96 Touch Real time PCR System (Biorad, EE.UU.). El porcentaje de metilación de la región promotora se determinó utilizando la diferencia de Cp obtenidos entre las muestras tratadas y sin tratar (ΔC_p) utilizando la ecuación descrita por Oakes *et al.*: % Metilación = $100 \cdot (1 - e^{-0,7\Delta C_p})$ (56) (Figura 4).

Previamente a la medida de la metilación de los genes diana ((CSE, CPT1 Región 1 (Reg 1), CPT1 Región 2 (Reg 2)), se midió la metilación de un gen control (receptor de glucocorticoides, GR) utilizando *primers* que amplificaban zonas del genoma ausentes de secuencias diana para la enzima (Tabla I). El objetivo fue comprobar que la concentración del ADN tratado con McrBC y no tratado era, aproximadamente, la misma; y que no se habían producido roturas inespecíficas en las muestras. Se aceptaron como correctas las muestras cuya diferencia de Cp del ADN tratado y del ADN control fuese igual o inferior a ± 0.3 ciclos (56).

4.4. Análisis estadístico de los datos

Los resultados se expresaron como media \pm error estándar (ES) correspondiente a un número de 7 u 8 animales por grupo. Las diferencias estadísticas se analizaron mediante ANOVA de doble vía. Cuando las diferencias resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,05$), se analizaron mediante el test *a posteriori* de Bonferroni para determinar la significatividad de la varianza. Por un lado, los factores analizados fueron el efecto de consumo de fructosa por la madre durante la gestación (M) en la descendencia macho joven. Estas diferencias entre madres control vs. madres fructosa se indicaron con una almohadilla (#). Por otro lado, se analizó el efecto de los tratamientos que se administraron a la descendencia macho joven (D). Las diferencias entre estos, dentro del mismo grupo nutricional de las madres, se indicarán mediante un asterisco. Toda la determinación estadística se realizó utilizando el programa informático SPSS (versión 28).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Consumo de fructosa vs. tagatosa

En base a estudios previos que mostraban que el consumo de fructosa alteraba la expresión de algunas enzimas del metabolismo de un carbono, se hipotetizó que esto podría modificar la expresión de las DNMTs y otras metiltransferasas, explicando así las alteraciones

Tabla II. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la expresión DNMT1, DNMT3a y DNMT3b en hígado, así como DNMT1 y DNMT3b en corazón, en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrada (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	DNMT1 hígado		DNMT3a hígado		DNMT3b hígado		DNMT1 corazón		DNMT3a corazón	
	p	η^2	p	η^2	p	η^2	p	η^2	p	η^2
Madre	0.06	0.095	0.456	0.017	0.469	0.015	0.455	0.016	0.288	0.033
Dieta	0.84	0.01	0.459	0.046	0.644	0.024	0.004	0.268	0.015	0.22
Madre*dieta	0.869	0.008	0.578	0.033	0.78	0.014	0.7	0.02	0.425	0.049

observadas en el epigenoma (33,56). Para determinar si dicho efecto era específico de este azúcar, se estudió comparativamente con la tagatosa, que, como se ha mencionado en la introducción, es un epímero de la fructosa.

5.1.1. Expresión génica de las DNMTs en hígado y corazón

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) de doble vía para la expresión de las DNMTs (DNMT1, DNMT3a, DNMT3b) tanto en hígado como en corazón (Tabla II) muestran que la dieta afecta a la expresión de las DNMTs solo en el corazón, poniendo de manifiesto un efecto tisular dependiente.

De acuerdo con los resultados de la ANOVA, no se observaron diferencias significativas en los niveles de expresión hepática de estos

genes como resultado de la dieta (Figura 5). Sin embargo, es importante destacar que la regulación de las DNA-metiltransferasas no se limita únicamente a la transcripción y traducción de los genes que las codifican, sino que también involucra una regulación post-traduccional mediada por diferentes mecanismos entre los que se encuentra la regulación metabólica, mediada por metabolitos centrales del metabolismo de un carbono (59). Por tanto, según los resultados de expresión obtenidos, aunque la dieta no genere diferencias en la expresión hepática de estas enzimas, no es posible concluir que no haya variaciones en su actividad mediadas por otros mecanismos.

No obstante, cuando se midió la expresión de DNMT1 y DNMT3a en corazón, sí que se encontraron diferencias significativas en función del carbohidrato consumido durante la vida

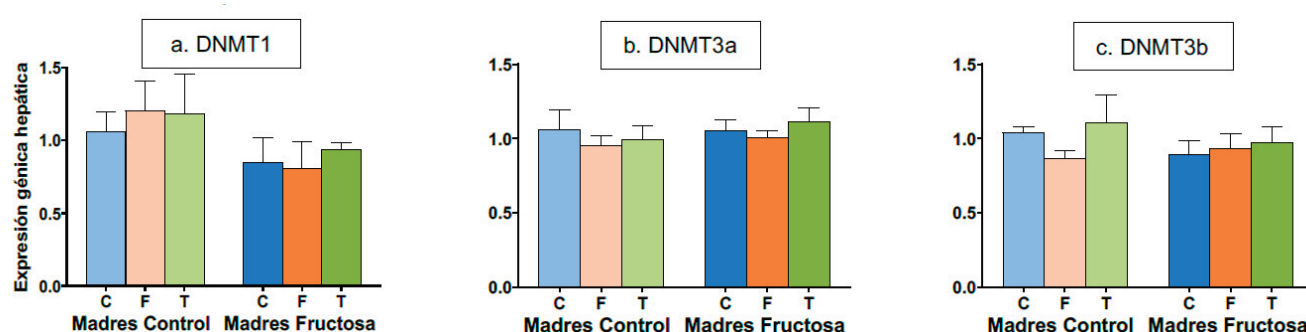


Figura 5. Expresión de los genes (u.a.) DNMT1 (a), DNMT3a (b), DNMT3b (c) en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o tagatosa líquida (10%): barras verdes). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

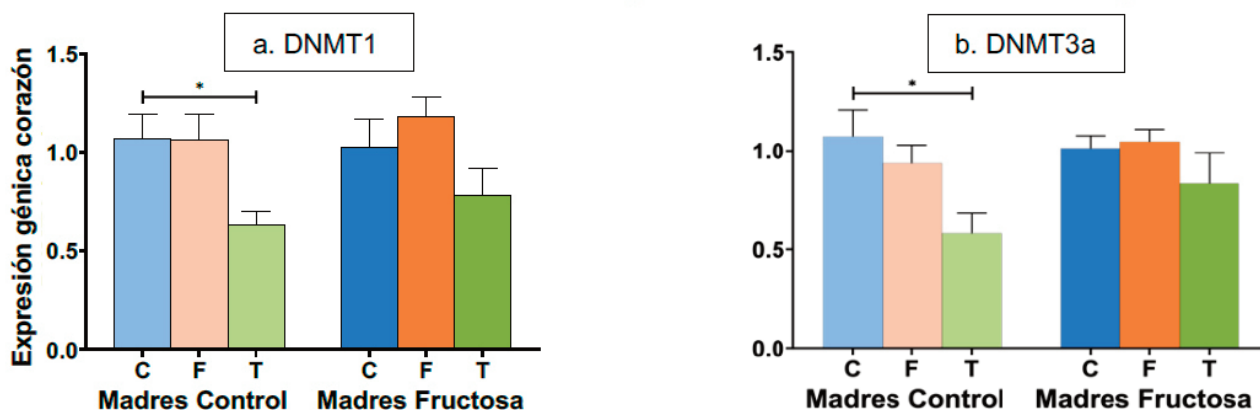


Figura 6. Expresión de los genes (u.a.) DNMT1 (a) y DNMT3a (b) en corazón en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o tagatosa líquida (10%): barras verdes). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con diferente dieta. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

postnatal. Como se muestra en la *Figura 6*, la expresión de DNMT1 y DNMT3a disminuyó significativamente en la descendencia de las madres control tras el consumo de tagatosa. Por tanto, la menor expresión cardíaca de estas enzimas sería un efecto específico de la tagatosa no observado tras la ingesta de fructosa.

5.1.2. Expresión génica hepática de Pemt y GNMT

Como se ha mencionado previamente, otras enzimas que forman parte del ciclo de la metionina y que utilizan SAM como donante de metilos son Pemt, implicada en la síntesis de fosfatidilcolina, y GNMT, en la síntesis de sarcosina. Tal y como se muestra en la Tabla III,

el análisis de la ANOVA de doble vía muestra que la expresión hepática de GNMT presenta diferencias estadísticamente significativas debidos al factor DIETA, sin encontrarse diferencias significativas en la expresión de Pemt (*Figura 7a*).

Al analizar las diferencias encontradas en la expresión de GNMT, observamos que el consumo de carbohidratos por la descendencia de madres control y madres fructosa provocó menores niveles en la expresión de esta enzima, aunque sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas con el grupo control (*Figura 7b*).

Tabla III. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la expresión hepática de Pemt y GNMT en la descendencia macho. *p*: valor de probabilidad. η^2 : proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	Pemt hígado		GNMT hígado	
	<i>p</i>	η^2	<i>p</i>	η^2
Madre	0.47	0.015	0.068	0.09
Dieta	0.325	0.062	0.016	0.205
Madre* dieta	0.055	0.153	0.917	0.005

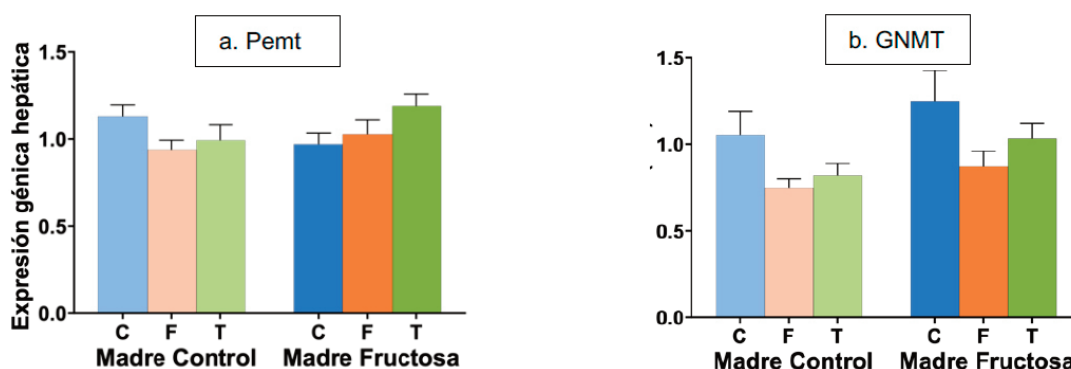


Figura 7. Expresión de los genes (u.a.) Pemt (a) y GNMT (b) en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o tagatosa líquida (10%): barras verdes). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

5.1.3. Nivel de metilación del promotor de la CSE en hígado

Aunque no se observaron diferencias significativas en la expresión de las DNA-metiltransferasas como consecuencia del consumo de fructosa o tagatosa, teniendo en cuenta que la actividad de dichas enzimas no depende únicamente de su expresión, se evaluó la metilación del promotor de la enzima CSE, implicada en la ruta de la transulfuración y, por tanto, en el metabolismo de un carbono. Dado que la ingesta de fructosa pre- y postnatal se asocia con un mayor riesgo de ECV y SM, los cambios en la metilación de este promotor podrían estar potencialmente vinculados con alteraciones en el metabolismo y promover factores de riesgo para el desarrollo de estas patologías.

El estudio ANOVA de doble vía (*Tabla IV*) muestra que la metilación del promotor de CSE está afectada significativamente por el efecto MADRE. El análisis posterior mediante el test de Bonferroni permitió identificar que el consumo de fructosa por la descendencia de madres control dio lugar a niveles de metilación significativamente superiores a los observados como resultado del consumo de agua o tagatosa. Así, como se muestra en la *Figura 8*, el nivel de metilación del promotor de CSE se vio aumentado como consecuencia del consumo postnatal de fructosa.

Sorprendentemente, el aumento en el nivel de metilación observado en los machos descendientes de madres control que consumieron fructosa no se observó cuando éstos consumieron tagatosa, lo que pone de manifiesto el efecto específico del carbohidrato ingerido. Asimismo, el consumo materno de fructosa anuló drásticamente dicho aumento en la metilación del promotor de CSE en la descendencia cuando ésta consumió dicho monosacárido (*Figura 8*). Este resultado parece indicar que el consumo prenatal de fructosa evitaría la hipermetilación observada en el promotor de CSE como resultado de la ingesta de fructosa durante la vida adulta a través del fenómeno de la programación fetal.

Expresión génica hepática de la CSE

Con el fin de determinar si los cambios observados en la metilación del promotor de CSE como resultado del consumo de fructosa podría tener algún efecto sobre la expresión de la enzima codificada por este gen, se midió la expresión hepática de dicha enzima limitante de la transulfuración. En la *Tabla V* se muestran los resultados de la ANOVA de doble vía para la expresión de CSE, y se puede observar que el factor DIETA mostró diferencias estadísticamente significativas.

Tabla IV. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la metilación de la CSE hepática, en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	CSE metilación	
	p	η^2
Madre	0,016	0,174
Dieta	0,126	0,125
Madre*dieta	0,126	0,125

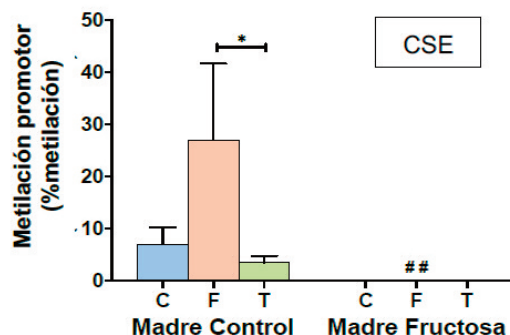


Figura 8. Metilación del promotor de la CSE en hígado de machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o tagatosa líquida (10%): barras verdes). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con diferente dieta. Las almohadillas (#) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con la misma dieta, pero procedentes de madres que recibieron diferente dieta. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

Como se muestra en la *Figura 9*, la hipermetilación del promotor CSE se tradujo, como era de esperar, en una menor expresión de la enzima en los machos procedentes de madres control que consumieron fructosa. De nuevo, de acuerdo con lo observado en la metilación de dicho promotor (*Figura 8*), no se observaron diferencias en la expresión de la CSE entre

los tres grupos experimentales en los machos descendientes de madres fructosa. Como se muestra en la *Figura 1*, la CSE está involucrada en la conversión de la homocisteína a través de la vía de la transulfuración, siendo la principal enzima responsable en la producción hepática de H₂S (60).

Tabla V. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la expresión hepática de CSE en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	CSE hígado	
	p	η^2
Madre	0,944	0,000
Dieta	0,000	0,371
Madre*dieta	0,053	0,154

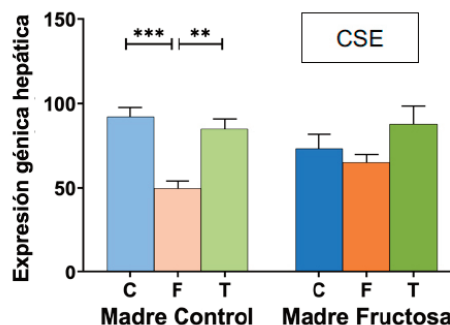


Figura 9. Expresión del gen CSE en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o tagatosa líquida (10%): barras verdes). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con diferente dieta. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

Se ha descrito que niveles reducidos de H2S están asociados con el desarrollo de patologías como la hipertensión, arritmia o fallo cardiaco, pues este gasotransmisor desempeña un papel crucial en diversos procesos fisiológicos como la regulación de la función cardiaca, la inflamación y la vasodilatación (61,62). Esta relación refuerza el carácter perjudicial del consumo de fructosa, ya que una menor expresión de la CSE inducida por este monosacárido podría conducir a niveles más bajos de H2S, lo que, a su vez, podría favorecer el desarrollo de patologías.

5.1.5. Relación entre niveles de SAH y metilación

Como se ha mencionado en el apartado 5.1.1., aunque las dietas administradas no alteraron la expresión de las metiltransferasas en el hígado, los resultados obtenidos muestran cambios en los patrones de metilación del promotor de la CSE (Figura 8). Esto sugiere la existencia de cambios en la actividad de las DNA-metiltransferasas mediados por otro mecanismo diferente a la expresión génica. Por tanto, para intentar descifrar la causa de la alteración del metiloma, se evaluaron los

niveles hepáticos de SAH, un producto de las metiltransferasas que afecta su actividad enzimática.

Los resultados muestran una tendencia hacia menores niveles hepáticos de SAH en la descendencia de madres control tras el consumo de fructosa, en comparación con el grupo que consumió tagatosa o agua. Esta tendencia no se observó en los hijos de madres fructosa (Tabla VI, Figura 10). Dicha disminución se relaciona inversamente con los niveles de metilación observados en el promotor de CSE (Figura 8), es decir, menores niveles de SAH se podrían asociar con un mayor nivel de metilación en la descendencia de madres control que consumieron fructosa. Dado que SAH regula negativamente a las DNMTs, podríamos estar ante la causa de las alteraciones observadas en el metiloma en este grupo experimental (63). Menores niveles de SAH debido al consumo de fructosa implicarían una mayor actividad enzimática de las DNMTs y una mayor metilación del promotor de CSE, reduciendo la expresión de la enzima. Por tanto, aunque no se observan cambios en la expresión de las DNMTs debido a la dieta, sí se vieron alteraciones en la metilación por posibles cambios en su actividad.

Tabla VI. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en los niveles hepáticos de SAH en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	SAH hígado	
	p	η^2
Madre	0,130	0,070
Dieta	0,648	0,027
Madre*dieta	0,536	0,038

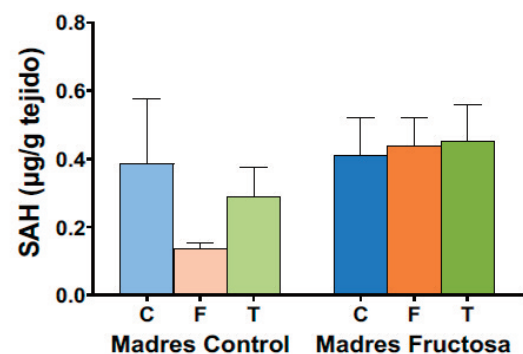


Figura 10. Niveles de SAH ($\mu\text{g/g}$ tejido) en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o tagatosa líquida (10%): barras verdes). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos. Resultados cedidos correspondientes a la tesis doctoral en preparación de Cristina Donis Rodríguez.



5. 2. Consumo de fructosa vs fructosa + colesterol (dieta occidental)

Una vez analizados los efectos del consumo de fructosa, se determinaron los efectos del consumo de la dieta occidental, para lo que se empleó como modelo el consumo de fructosa asociada a colesterol.

5.2.1. Expresión génica de DNMTs en hígado y corazón

Tras el análisis estadístico de la ANOVA de doble vía sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas en la expresión hepática de DNMT1 con el factor MADRE. Por otro lado, cuando se estudió la interacción MADRE*DIETA, la expresión de DNMT1 en corazón mostró diferencias cuasi significativas con un $p=0,053$. A su vez, al analizar la expresión de DNMT3a en este mismo tejido, se observó que el factor DIETA mostraba un valor de $p=0,074$, y esta diferencia fue incluso mayor cuando se analizó la interacción MADRE*DIETA con un p de 0,06 (Tabla VII).

Al analizar las diferencias estadísticas mediante el test de Bonferroni, se observó que el consumo de dieta occidental mostró una menor expresión de DNMT3a en los descendientes de madres control que consumieron esta dieta cuando se comparaba con el grupo control, aunque sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas (Figura 11 b). Sin embargo, la expresión de DNMT3b sí que presentó diferencias significativas, tanto por la

dieta consumida por la descendencia como por efecto de la programación fetal (Figura 11c). Así, el consumo de la dieta occidental por la descendencia de madres control provocó niveles significativamente menores cuando se comparó con el grupo control. Sin embargo, dicho efecto inducido por la WD no fue encontrado en los descendientes de madres fructosa.

Por tanto, teniendo en cuenta su implicación en el establecimiento de los patrones de metilación *de novo*, una menor expresión de DNMT3a y DNMT3b promovida por la dieta occidental podría potencialmente resultar en un metiloma aberrante (40). Por otro lado, el efecto de la programación fetal debido al consumo materno de fructosa atenuó los efectos observados por la dieta occidental (WD) en la descendencia de madres control. Este resultado reafirma que la fructosa consumida por la madre durante la gestación podría actuar como un estresor intrauterino que altera la expresión de las enzimas del ciclo de la metionina y evita la disminución en la expresión de DNMT3a y DNMT3b que aparece tras la exposición a una dieta occidental en la juventud a través de la programación fetal.

Por otro lado, al analizar la expresión de las DNA - metiltransferasas en el corazón, tras el test de Bonferroni se observaron niveles significativamente inferiores en la expresión de DNMT1 en los hijos de madres fructosa que consumieron fructosa asociada a colesterol (Figura 12a) en comparación con los que consumieron fructosa. Un perfil similar se observó

Tabla VII. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la expresión DNMT1, DNMT3a y DNMT3b en hígado, así como DNMT1 y DNMT3b en corazón, en la descendencia macho. p : valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	DNMT1 hígado		DNMT3a hígado		DNMT3b hígado		DNMT1 corazón		DNMT3a corazón	
	p	η^2	p	η^2	p	η^2	p	η^2	p	η^2
Madre	0.046	0.109	0.456	0.017	0.114	0.07	0.179	0.053	0.215	0.046
Dieta	0.868	0.008	0.529	0.038	0.12	0.114	0.318	0.065	0.074	0.146
Madre* dieta	0.883	0.007	0.094	0.134	0.193	0.09	0.053	0.158	0.06	0.157

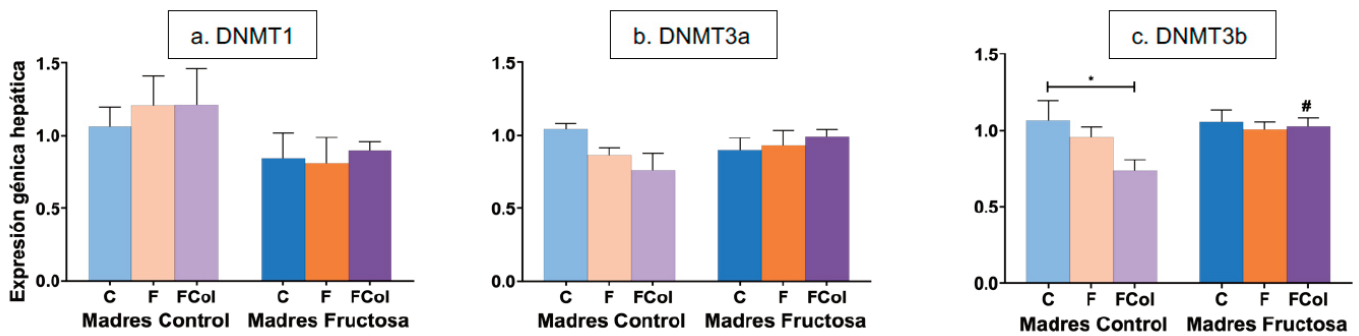


Figura 11. Expresión de los genes DNMT1 (a), DNMT3a (b), DNMT3b (c) en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o fructosa + col (2%): barras moradas). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con diferente dieta. Las almohadillas (#) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con la misma dieta, pero procedentes de madres que recibieron diferente dieta. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

tras analizar la expresión de DNMT3a (Figura 12b). Cabe destacar que los menores niveles observados en la descendencia de madres fructosa que consumieron dieta occidental mostraron diferencias estadísticamente significativas al compararlos con los de la descendencia de madres control que ingirieron esa misma dieta. Nuevamente, la nutrigenómica que estaba afectando a la expresión de las DNMTs tras el consumo de la dieta occidental resultó ser dependiente del tejido estudiado.

5.2.2. Expresión génica hepática Pemt y GNMT

El análisis de la ANOVA de doble vía mostró diferencias estadísticamente significativas en ambos genes debido al factor DIETA (Tabla VIII). Posteriormente, cuando se analizaron dichas diferencias mediante el test de Bonferroni, y tal y como se muestra en la Figura 13, se observó que el consumo de la dieta occidental provocó una disminución en la expresión

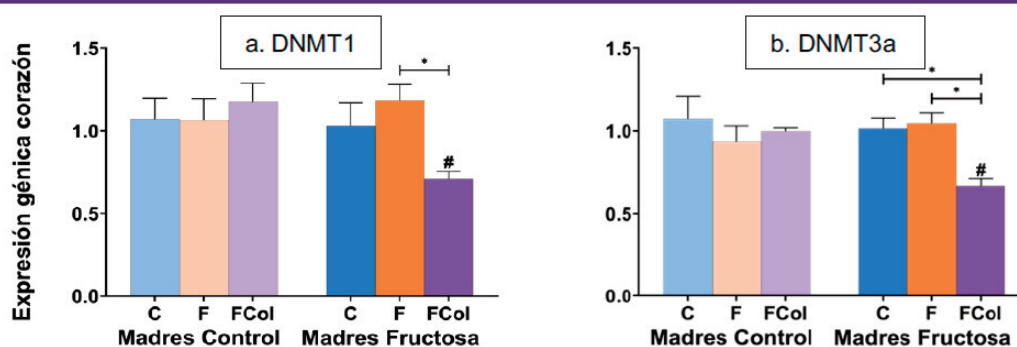


Figura 12. Expresión de los genes DNMT1 (a) y DNMT3a (b) (u.a.) en corazón en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o fructosa + col (2%): barras moradas). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con diferente dieta. Las almohadillas (#) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con la misma dieta, pero procedentes de madres que recibieron diferente dieta. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.



Tabla VIII. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la expresión hepática de Pemt y GNMT en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	Pemt hígado		GNMT hígado	
	p	η^2	p	η^2
Madre	0.984	0	0.079	0.088
Dieta	0	0.478	0.001	0.359
Madre*dieta	0.134	0.112	0.937	0.004

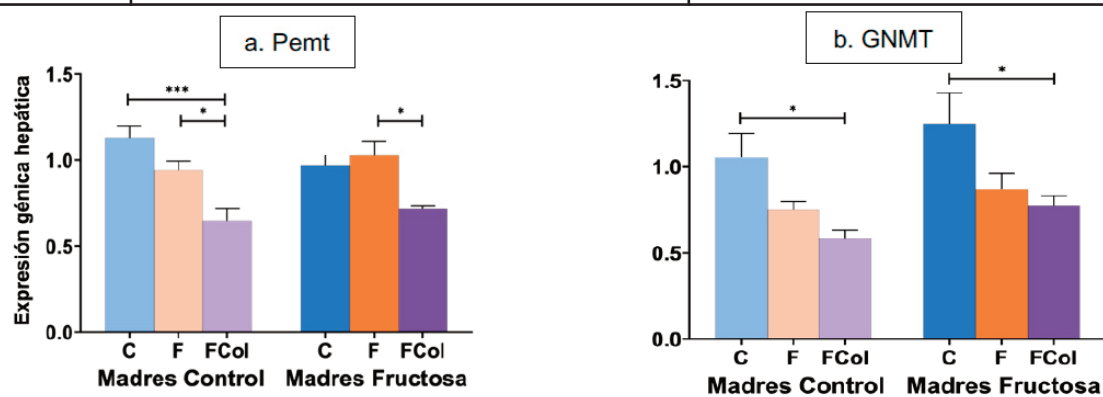


Figura 13. Expresión de los genes GNMT (a) y Pemt (b) (u.a.) en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o fructosa + col (2%): barras moradas). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con diferente dieta. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

sión de ambas enzimas, independientemente de la dieta consumida por la madre durante la gestación. Por tanto, sería interesante indagar en las consecuencias de esta disminución en la expresión, ya que podría traducirse en una menor síntesis de sarcosina y fosfatidilcolina, con potenciales repercusiones en el desarrollo de diversas patologías (50,53).

5.2.3. Nivel de metilación del promotor de CPT1 en hígado

Dado que la expresión de DNMT3a y DNMT3b disminuyó como resultado del consumo de la dieta occidental (fructosa + colesterol) en los hijos de madres control sin afectar a la descendencia de madres fructosa, se midió el nivel de metilación del promotor de la enzima

carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT1) para determinar cómo estos cambios en la expresión podían afectar al metiloma. En este caso y basándonos en la bibliografía analizamos dos regiones del promotor. Como se observa en la *Tabla IX*, el estudio de ANOVA de doble vía muestra que la metilación de la región 2 del promotor de CPT1 está modulada por el factor DIETA y por la interacción MADRE*DIETA, aunque sin llegar a ser significativo en ningún caso.

El análisis posterior mediante el test de Bonferroni permitió identificar que el nivel de metilación del promotor del gen para CPT1 en la descendencia de madres control que consumió dieta occidental era menor cuando se comparó con la descendencia que consumió fructosa, tanto en la región 1 como en la región 2

Tabla IX. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la metilación de CPT1 Reg 1 y CPT1 Reg 2 en hígado en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	CPT1 Reg 1 metilación		CPT1 Reg 2 metilación	
	p	η^2	p	η^2
Madre	0.933	0	0.667	0.006
Dieta	0.729	0.018	0.078	0.14
Madre*dieta	0.319	0.063	0.08	0.138

del promotor (Figura 14). Además, se observó una tendencia hacia una menor metilación en la región 1 del promotor de CPT1 en comparación con los machos que consumieron agua descendientes de madres control (Figura 14a). Esto es coherente con los resultados de expresión de DNMT3a y DNMT3b obtenidos para dicho grupo experimental, pues una menor actividad de estas enzimas como resultado de su menor expresión supondría una menor metilación de los promotores génicos (Figura 11b,c). Por otro lado, cuando los individuos procedentes de madres que habían estado expuestas a fructosa durante la gestación consumieron la dieta occidental, se observó una tendencia hacia el aumento de la metilación de las dos regiones estudiadas (Figura 14). Por tanto, el fenómeno de la programación fetal inducido por la exposición a fructosa durante la gestación se volvía a observar en este caso.

5.2.4. Expresión génica hepática de la CPT1

Para determinar los efectos observados en la metilación del promotor del gen para CPT1, se midió la expresión génica de la enzima. La CPT1 es una enzima involucrada en la β -oxidación de los AG en las mitocondrias, catalizando la entrada de los AG de cadena larga desde el citosol hasta el interior del orgánulo, por lo que juega un papel fundamental en la homeostasis energética del organismo (64).

A pesar de que el estudio ANOVA de doble vía no mostró diferencias estadísticamente significativas, el posterior test de Bonferroni permitió corroborar que el perfil de expresión coincidía con lo esperado en base a la metilación del promotor en la descendencia, tanto de madres control como de madres fructosa. Los mayores niveles de metilación observados tras consumo de fructosa por la descendencia

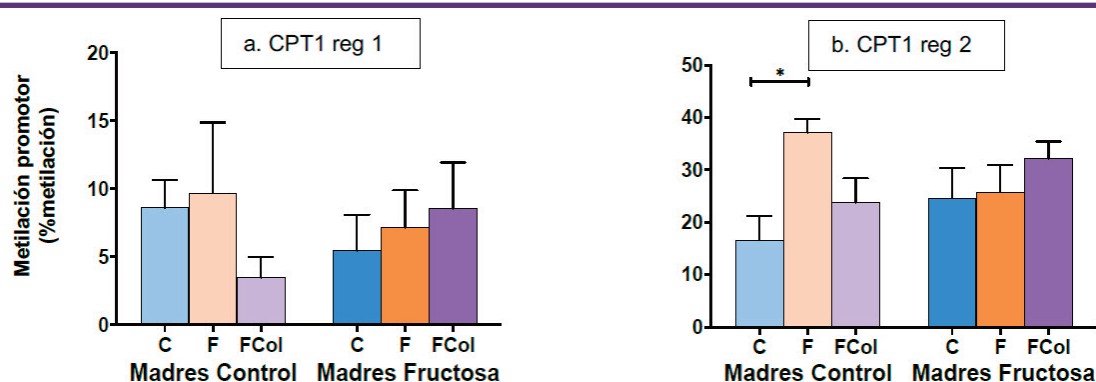


Figura 14. Metilación de los promotores CPT1 Región 1 (a) y CPT1 Región 2 (b) en hígado de machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o fructosa + col (2%): barras moradas). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas entre machos tratados con diferente dieta. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

Tabla X. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en la expresión hepática de CPT1 en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	CPT1 hígado	
	p	η^2
Madre	0.116	0.069
Dieta	0.645	0.025
Madre*dieta	0.6	0.029

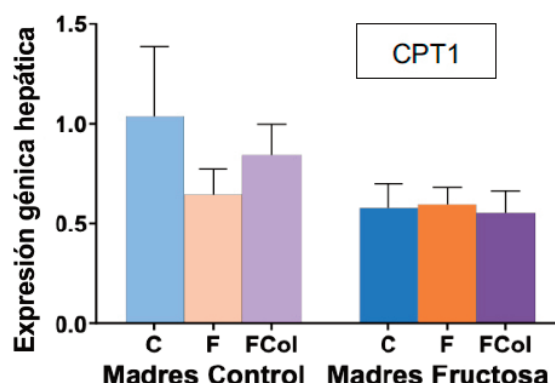


Figura 15. Expresión del gen CPT1 (u.a.) en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o fructosa + col (2%): barras moradas). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

de madres control en ambas regiones del promotor (Figura 14) se correlacionaban con los menores niveles de expresión observados por este grupo (Figura 15). Curiosamente, esa hipermetilación que se observaba en los descendientes de madres control tras la ingesta de fructosa, desaparecía al combinar dicho azúcar con el consumo de colesterol, y coincidía con la normalización de la expresión de CPT1 a los niveles observados en la progenie que tomó agua sin aditivos.

Por otro lado, los individuos descendientes de madres fructosa presentaron niveles prácticamente idénticos de expresión de CPT1, independientemente de la dieta que recibieron durante su juventud. Esto resulta llamativo teniendo en cuenta las diferentes tendencias de expresión de la enzima observadas en la descendencia de madres control como resultado de la dieta que consumieron en su vida postnatal. Este resultado podría indicar que, de nuevo, la ingesta materna de fructosa promueve la programación fetal insensibilizando a la descendencia ante los cambios en la expresión de la enzima CPT1 promovidos por factores nutrigenómicos, en este caso las dietas estudiadas. Por tanto, esta falta de respuesta

a dietas potencialmente lipogénicas en la expresión de una enzima limitante de una vía tan importante del metabolismo lipídico como es la CPT1, podría promover la aparición de enfermedades metabólicas que cursen con esteatosis y/o dislipemia (65).

5.2.5. Relación entre niveles de SAH y metilación

Al medir los niveles de SAH en los machos jóvenes que consumieron fructosa + colesterol no se obtuvieron cambios significativos entre grupos (Tabla XI). No obstante, a diferencia de lo observado en los hijos de madres control que consumieron fructosa, en los que se observó una tendencia hacia menores niveles de SAH; cuando la ingesta de dicho monosacárido se asoció a colesterol, se encontró la tendencia opuesta (Figura 16) y niveles similares a los encontrados en los machos control.

Considerando la retroalimentación negativa que ejerce dicho metabolito contra las DNMTs, la existencia de elevados niveles de SAH es coherente con la menor tasa de metilación encontrada en la región 1 del promotor de CPT1 en los hijos de madres control que consumie-

Tabla XI. ANOVA de doble vía de los resultados obtenidos en los niveles hepáticos de SAH en la descendencia macho. p: valor de probabilidad. Eta cuadrado (η^2): proporción de la varianza atribuida a la madre, a la dieta o a la interacción madre*dieta.

	SAH hígado	
	p	η^2
Madre	0,827	0,001
Dieta	0,661	0,024
Madre*dieta	0,170	0,099

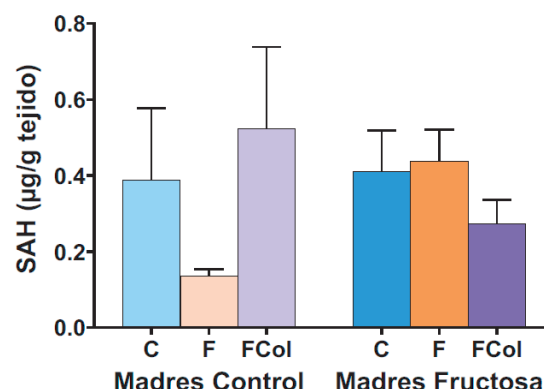


Figura 16. Niveles de SAH ($\mu\text{g/g}$) en hígado en machos F1 descendientes de madres control y madres fructosa tras consumir diferentes dietas durante 21 días (control: barras azules; fructosa líquida (10%): barras naranjas; o fructosa + col (2%): barras moradas). Los datos representan la media \pm E.S. de 7-8 ratas. Las diferencias entre los factores y su interacción se analizaron utilizando ANOVA de doble vía con un test a posteriori de Bonferroni para detectar las diferencias significativas entre grupos.

ron una dieta occidental. Por tanto, la actividad de DNMT3a y DNMT3b estaría disminuida de manera importante por la acción combinada de los mecanismos transcripcional, definido por una menor expresión génica, y de retroalimentación negativa de la actividad enzimática en este grupo. De la misma manera, la tendencia a disminuir los niveles de SAH en los descendientes de madres fructosa que tomaron la dieta occidental (Figura 16), podrían ser los causantes de la tendencia a una mayor metilación del promotor de CPT1 observada en ese mismo grupo, principalmente en la región 2 del mismo (Figura 14).

No obstante, considerando que SAM también es sustrato de Pemt y GNMT, es probable que los elevados niveles de SAH detectados en los descendientes de madres control que consumieron una dieta occidental también estuvieran ejerciendo una acción inhibitoria sobre la actividad de dichas enzimas. De hecho, la literatura contempla la relación SAM/SAH como uno de los principales reguladores de su actividad (46,66). Por tanto, la existencia de este potencial efecto inhibitorio sobre la actividad enzimática junto a la disminución de su expresión génica observada podría favorecer el

desarrollo de patologías de diversa naturaleza resultado de la disminución de los niveles de PC y sarcosina.

6. CONCLUSIONES

El consumo de fructosa por individuos jóvenes aumentó drásticamente la metilación del promotor de la CSE hepática en la descendencia de madres control, probablemente a través del aumento de la actividad de las DNMTs, como consecuencia de la disminución de los niveles de SAH. Este aumento no se observó tras el consumo de tagatosa, lo que implica que la alteración del metiloma y consecuente disminución de la expresión de la CSE son dependientes del carbohidrato ingerido.

Sin embargo, la hipermetilación del promotor de la CSE no se observó en la descendencia de madres que consumieron fructosa durante la gestación, lo que indicaría que dicho monosacárido es capaz de anular la alteración del metiloma promovida por el consumo postnatal de fructosa a través del fenómeno de la programación fetal.

La ingesta postnatal de fructosa, cuando se asoció a colesterol, disminuyó la expresión he-



pática de DNMT3a y DNMT3b en los descendientes de madres control. Esta menor expresión junto con una posible menor actividad de las DNMTs ejercida por los elevados niveles de SAH encontrados en este grupo experimental, estarían promoviendo una disminución de los niveles de metilación del promotor de CPT1 y, como resultado, un aumento de la expresión de esta enzima.

En los individuos descendientes de madres fructosa que consumieron una dieta occidental, la expresión de CPT1 resultó ser prácticamente idéntica entre grupos. Esto reafirma la hipótesis de que el consumo materno de fructosa promueve la programación fetal, insensibilizando a la descendencia ante los cambios en la expresión de la enzima CPT1 promovidos por factores nutrigenómicos. Esta falta de adaptación a cambios dietéticos en esta enzima del catabolismo de ácidos grasos podría potenciar el desarrollo de esteatosis y dislipemia en dichos individuos.

El consumo de una dieta occidental disminuyó significativamente la expresión de Pemt y GNMT, independientemente de la dieta recibida por la madre. Esto pone de manifiesto que la alteración de la metilación inducida por la dieta no es exclusiva de los promotores génicos, sino que también afecta a otros componentes celulares, en este caso el metabolismo de fosfolípidos y de glicina.

Listado de Abreviaturas

#5-metil-THF: 5-metil-tetrahidrofolato

ADN: ácido desoxirribonucleico

ADNc: ADN complementario

AG: ácidos grasos

AHCY: SAH hidrolasa

ANOVA: análisis de Varianza

ARN: ácido ribonucleico

ATP III: Adult Treatment Panel III

BCP: bromocloropropano

BHMT: betaína-homocisteína metiltransferasa

CAC: ciclo del ácido cítrico

CBS: cistationina beta sintasa

CC: machos de madres control-control

CF: machos de madres control-fructosa

CF+col: machos de madres control-dieta occidental

Cp: crossing point

CpG / CG: dinucleótido citosina - guanina

CT: machos de madres control-tagatosa

CPT1: carnitina palmitoiltransferasa 1

CSE: cistationina gamma liasa

DHAP: dihidroxiacetona

DNMTs: DNA-metiltransferasas

DNMT1: DNA-metiltransferasa 1

DNMT3a: DNA-metiltransferasa 3a

DNMT3b: DNA-metiltransferasa 3b

DOHAD: *developmental origins of health and disease* (teoría del desarrollo temprano de la salud y la enfermedad)

ECV: enfermedad cardiovascular

ES: error estándar

FC: machos de madres fructosa-control

FF: machos de madres fructosa-fructosa

FF+col: machos de madres fructosa-dieta occidental

FT: machos de madres fructosa-tagatosa

G3P: gliceraldehído-3-fosfato

GNMT: glicina-N-metiltransferasa

GR: glucocorticoides

GTP: guanosina trifosfato

H₂S: sulfuro de hidrógeno

HDL: lipoproteínas de alta densidad

HFCS: High Fructose Corn Syrup (Jarabe de Maíz Rico en Fructosa)

LDL: lipoproteínas de baja densidad

LXR α : receptor X hepático alfa

MAT1A: metionina adenosiltransferasa

MTHFD1: metilen-THFdeshidrogenasa-1

MTHFR: metilen-THF-reductasa

MTR: metionina sintasa

MTRR: metionina sintasa reductasa

NCBI: *National Center for Biotechnology Information*

PC: fosfatidilcolina

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PE: fosfatidiletanolamina

Pemt: fosfatidiletanolamina N-metiltransferasa

PPAR α : receptor nuclear activado por proliferadores peroxisómicos



Q-PCR: PCR a tiempo real
RT: transcriptasa inversa
SAH: S-adenosilhomocisteína
SAM: S-adenosilmetionina
SM: Síndrome Metabólico
THF: tetrahidrofolato TG: triglicéridos
VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad
WD: *Western Diet* (Dieta Occidental)

7. REFERENCIAS

1. Febbraio MA, Karin M. "Sweet death": Fructose as a metabolic toxin that targets the gut-liver axis. *Cell Metab.* 2021;33(12):2316-2328.
2. Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients.* 2017;9(4):335.
3. Tappy L, Lê KA. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev.* 2010;90(1):23-46.
4. Jung S, Bae H, Song WS, et al. Dietary Fructose and Fructose-Induced Pathologies. *Annu Rev Nutr.* 2022;42:45-66.
5. Mirisola MG. The Nutriepigenome. *Genes (Basel).* 2023;14(11):1997.
6. Dahlhoff C, Desmarchelier C, Sailer M, et al. Hepatic methionine homeostasis is conserved in C57BL/6N mice on high-fat diet despite major changes in hepatic one-carbon metabolism. *PLoS One.* 2013;8(3):e57387.
7. Roy S, Chikkerur J, Roy SC, et al. Tagatose as a Potential Nutraceutical: Production, Properties, Biological Roles, and Applications. *J Food Sci.* 2018;83(11):2699-2709.
8. Mayumi S, Kuboniwa M, Sakanaka A, et al. Potential of Prebiotic D-Tagatose for Prevention of Oral Disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:767944.
9. Espinosa I, Fogelfeld L. Tagatose: from a sweetener to a new diabetic medication?. *Expert Opin Investig Drugs.* 2010;19(2):285-294.
10. Malesza IJ, Malesza M, Walkowiak J, et al. High-Fat, Western-Style Diet, Systemic Inflammation, and Gut Microbiota: A Narrative Review. *Cells.* 2021;10(11):3164.
11. Clemente-Suárez VJ, Beltrán-Velasco AI, Redondo-Flórez L, et al. Global Impacts of Western Diet and Its Effects on Metabolism and Health: A Narrative Review. *Nutrients.* 2023;15(12):2749.
12. Giussani M, Lieti G, Orlando A, et al. Fructose Intake, Hypertension and Cardiometabolic Risk Factors in Children and Adolescents: From Pathophysiology to Clinical Aspects. A Narrative Review. *Front Med.* 2022;9:792949.
13. Francula-Zaninovic S, Nola IA. Management of Measurable Variable Cardiovascular Disease' Risk Factors. *Curr Cardiol Rev.* 2018;14(3):153-163.
14. Causes of death statistics. [Internet]. Eurostat 2021. [Actualizado mar 2024; citado 24 may 2024]. Disponible en: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Causes_of_death_statistics#Major_causes_of_death_in_the_EU_in_2021
15. Cho Y, Lee SY. Useful Biomarkers of Metabolic Syndrome. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(22):15003.
16. Bovolini A, Garcia J, Andrade MA, et al. Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. *Int J Sports Med.* 2021;42(3):199-214.
17. Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis Model Mech.* 2009;2(5-6):231-237.
18. Tran LT, Yuen VG, McNeill JH. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. *Mol Cell Biochem.* 2009;332(1-2):145-159.
19. Hsieh CC, Liao CC, Liao YC, et al. Proteomic changes associated with metabolic syndrome in a fructose-fed rat model. *J Food Drug Anal.* 2016;24(4):754-761.
20. Moreno-Fernández S, Garcés-Rimón M, Vera G, et al. High Fat/High Glucose Diet Induces Metabolic Syndrome in an Experimental Rat Model. *Nutrients.* 2018;10(10):1502.
21. Moeller SM, Fryhofer SA, Osbahr AJ 3rd, et al. The effects of high fructose syrup. *J Am Coll Nutr.* 2009;28(6):619-626.
22. Geidl-Flueck B, Hochuli M, Németh Á, et al. Fructose- and sucrose- but not glucose-sweetened beverages promote hepatic de novo lipogenesis: A randomized controlled trial. *J Hepatol.* 2021;75(1):46-54.
23. Ferraris RP, Choe JY, Patel CR. Intestinal Absorption of Fructose. *Annu Rev Nutr.* 2018;38:41-67.



24. Li L, Wang M, Ma Q, et al. Role of glycolysis in the development of atherosclerosis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2022;323(2):C617-C629.
25. Merino B, Fernández-Díaz CM, Cózar-Castellano I, et al. Intestinal Fructose and Glucose Metabolism in Health and Disease. *Nutrients.* 2019;12(1):94.
26. Tappy L. Fructose metabolism and noncommunicable diseases: recent findings and new research perspectives. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2018;21(3):214-222.
27. Mortera RR, Bains Y, Gugliucci A. Fructose at the crossroads of the metabolic syndrome and obesity epidemics. *Front Biosci.* 2019;24(2):186-211.
28. Stanhope KL, Medici V, Bremer AA, et al. A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. *Am J Clin Nutr.* 2015;101(6):1144-1154.
29. Bokor S, Csölle I, Felső R, et al. Dietary nutrients during gestation cause obesity and related metabolic changes by altering DNA methylation in the offspring. *Front Endocrinol.* 2024;15:1287255.
30. Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *J Intern Med.* 2007;261(5):412-417.
31. Koletzko B, Godfrey KM, Poston L, et al. Nutrition During Pregnancy, Lactation and Early Childhood and its Implications for Maternal and Long-Term Child Health: The Early Nutrition Project Recommendations. *Ann Nutr Metab.* 2019;74(2):93-106.
32. Ando Y, Yamada H, Munetsuna E, et al. Maternal high-fructose corn syrup consumption causes insulin resistance and hyperlipidemia in offspring via DNA methylation of the Ppar α promoter region. *J Nutr Biochem.* 2022;103:108951.
33. Rodrigo S, Fauste E, de la Cuesta M, et al. Maternal fructose induces gender-dependent changes in both LXR α promoter methylation and cholesterol metabolism in progeny. *J Nutr Biochem.* 2018;61:163-172.
34. Kendig MD, Ekayanti W, Stewart H, et al. Metabolic Effects of Access to Sucrose Drink in Female Rats and Transmission of Some Effects to Their Offspring. *PLoS One.* 2015;10(7):e0131107.
35. Munetsuna E, Yamazaki M, Ohashi K, et al. Epigenetics and fructose metabolism: A new mechanism of fructose effects (Chapter 21). In: Patel BV. *Molecular Nutrition: Carbohydrates*; 2019. 353-368.
36. Moreno-Fernandez J, Ochoa JJ, Lopez-Frias M, et al. Impact of Early Nutrition, Physical Activity and Sleep on the Fetal Programming of Disease in the Pregnancy: A Narrative Review. *Nutrients.* 2020;12(12):3900.
37. Meng H, Cao Y, Qin J, et al. DNA methylation, its mediators and genome integrity. *Int J Biol Sci.* 2015;11(5):604-617.
38. Deaton AM, Bird A. CpG islands and the regulation of transcription. *Genes Dev.* 2011;25(10):1010-1022.
39. Sergeeva A, Davydova K, Perenkov A, Vedunova M. Mechanisms of human DNA methylation, alteration of methylation patterns in physiological processes and oncology. *Gene.* 2023;875:147487.
40. Sharma U, Rando OJ. Metabolic Inputs into the Epigenome. *Cell Metab.* 2017;25(3):544-558.
41. Janke R, Dodson AE, Rine J. Metabolism and epigenetics. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2015;31:473-496.
42. Chen C, Wang Z, Ding Y, et al. DNA Methylation: From Cancer Biology to Clinical Perspectives. *Front Biosci.* 2022;27(12):326.
43. Li Y, Pollock CA, Saad S. Aberrant DNA Methylation Mediates the Transgenerational Risk of Metabolic and Chronic Disease Due to Maternal Obesity and Overnutrition. *Genes.* 2021;12(11):1653.
44. Ohashi K, Munetsuna E, Yamada H, et al. High fructose consumption induces DNA methylation at PPAR α and CPT1A promoter regions in the rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;468(1-2):185-189.
45. Mizuno G, Yamada H, Munetsuna E, et al. High-fructose corn syrup intake increases hepatic mitochondrial DNA copy number and methylation in adolescent rats. *Nutr Res.* 2023;110:57-65.
46. Vance DE. Physiological roles of phosphatidylethanolamine N-methyltransferase. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1831(3):626-632.
47. Li J, Xin Y, Li J, Chen H, Li H. Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase: from Functions to Diseases. *Aging Dis.* 2023;14(3):879-891



48. van der Veen JN, Kennelly JP, Wan S, et al. The critical role of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2017;1859(9 Pt B):1558-1572.
49. Kim YC, Seok S, Byun S, et al. AhR and SHP regulate phosphatidylcholine and S-adenosylmethionine levels in the one-carbon cycle. *Nat Commun.* 2018;9(1):540.
50. Johnson AA, Cuellar TL. Glycine and aging: Evidence and mechanisms. *Ageing Res Rev.* 2023;87:101922.
51. Wang YC, Wu MT, Lin YJ, et al. Regulation of Folate-Mediated One-Carbon Metabolism by Glycine N-Methyltransferase (GNMT) and Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR). *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2015;61 Suppl:S148-S150. doi:10.3177/jnsv.61.S148
52. Martínez-Chantar ML, Vázquez-Chantada M, Ariz U, et al. Loss of the glycine N-methyltransferase gene leads to steatosis and hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology.* 2008;47(4):1191-1199. doi:10.1002/hep.22159
53. Clare CE, Brassington AH, Kwong WY, et al. One-Carbon Metabolism: Linking Nutritional Biochemistry to Epigenetic Programming of Long-Term Development. *Annu Rev Anim Biosci.* 2019;7:263-287. doi:10.1146/annurev-animal-020518-115206
54. Mato JM, Martínez-Chantar ML, Lu SC. S-adenosylmethionine metabolism and liver disease. *Ann Hepatol.* 2013;12(2):183-189.
55. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 2001;29(9):e45.
56. Oakes CC, La Salle S, Robaire B, et al. Evaluation of a quantitative DNA methylation analysis technique using methylation-sensitive/dependent restriction enzymes and real-time PCR. *Epigenetics.* 2006;1(3):146-152.
57. Li LC, Dahiya R. MethPrimer: designing primers for methylation PCRs. *Bioinformatics.* 2002;18(11):1427-1431.
58. Shang Y, Siow YL, Isaak CK, O K. Downregulation of Glutathione Biosynthesis Contributes to Oxidative Stress and Liver Dysfunction in Acute Kidney Injury. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:9707292.
59. Loaeza-Loaeza J, Beltran AS, Hernández-Sotelo D. DNMTs and Impact of CpG Content, Transcription Factors, Consensus Motifs, lncRNAs, and Histone Marks on DNA Methylation. *Genes (Basel).* 2020;11(11):1336.
60. Kabil O, Motl N, Banerjee R. H2S and its role in redox signaling. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1844(8):1355-1366.
61. Yang G, Wu L, Jiang B, et al. H2S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science.* 2008;322(5901):587-590.
62. Kolluru GK, Shackelford RE, Shen X, et al. Sulfide regulation of cardiovascular function in health and disease. *Nat Rev Cardiol.* 2023;20(2):109-125.
63. Soda K. Polyamine Metabolism and Gene Methylation in Conjunction with One-Carbon Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2018;19(10):3106.
64. Schlaepfer IR, Joshi M. CPT1A-mediated Fat Oxidation, Mechanisms, and Therapeutic Potential. *Endocrinology.* 2020;161(2):bqz046.
65. Longo N, Amat di San Filippo C, Pasquali M. Disorders of carnitine transport and the carnitine cycle. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2006;142C(2):77-85.
66. Vryer R, Saffery R. Metabolic regulation of DNA methylation in mammalian cells (Chapter 19). En: Tollefsbol TG (edit). *Handbook of epigenetics. The new molecular and medical genetics*; 2017. 293-305.

Si desea citar nuestro artículo:
Efecto del consumo materno de fructosa en la metilación de componentes celulares: fosfolípidos, glicina y promotores de genes (epigenética)
Ana Bernal, Elena Fauste, Madelin Pérez, Cristina Donis, Paola Otero, María Isabel Panadero, Carlos Bocos de Prada
An Real Acad Farm (Internet).
An. Real Acad. Farm. Vol. 92. n° 2 (2026) · pp. 183-209
DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.01.04>



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Lecciones aprendidas durante la pandemia de SARS-COV-2 y preparación de nuevas vacunas frente a amenazas epidémicas/pandémicas**Lessons learned during the SARS-COV-2 pandemic and preparedness of new vaccines against epidemic/pandemic threats**Mariano Esteban^{1*}, Jorge Esteban-Jiménez¹¹Departamento de Biología Molecular y Celular, Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, 28049 Madrid, España

e-mail: mesteban@cnb.csic.es

Recibido el 20 de abril de 2026; aceptado el 28 de abril de 2026

Disponibile en internet el 30 de junio de 2026

PALABRAS CLAVEEpidemias
Pandemias
Patógenos
SARS-CoV-2
Vacunas
Vectores
Salud global
Perspectivas futuras**RESUMEN**

En la historia reciente, la pandemia de COVID-19 ha representado uno de los mayores desafíos sanitarios y científicos a los que se ha enfrentado la humanidad. Cinco años después del inicio de la crisis, resulta necesario analizar profundamente los acontecimientos vividos, así como las decisiones adoptadas, los avances alcanzados y las limitaciones encontradas, para aprender lo que pasó y estar mejor preparados ante futuras epidemias y pandemias. En este artículo de revisión se aborda, desde una perspectiva histórica y experimental, el impacto de las pandemias en la salud, la respuesta global frente al SARS-CoV-2 y el desarrollo de distintas plataformas vacunales, con especial atención a las basadas en vectores virales atenuados del poxvirus MVA (virus vaccinia modificado de Ankara). Se describen los resultados obtenidos en modelos preclínicos, la respuesta frente a variantes emergentes, los efectos neurológicos asociados a la infección y la transferencia tecnológica hacia la producción industrial. También se analiza la aplicación de estas plataformas a otros patógenos de gran relevancia, como VIH, Ébola, Zika, Chikungunya y Mpox, y se discuten los retos pendientes en la preparación frente a futuras amenazas sanitarias.

KEYWORDSEpidemics
Pandemi
Pathogens
SARS-CoV-2
Vaccines
Viral vectors
Global health
Future perspectives**ABSTRACT**

The COVID-19 pandemic has represented one of the greatest health and scientific challenges faced by humanity in recent history. Five years after the onset of the crisis, it is essential to conduct an in-depth analysis of the events experienced, the decisions taken, the advances achieved, and the limitations encountered, in order to extract lessons applicable to future epidemics and pandemics. This revision article addresses, from a historical and experimental perspective, the impact of pandemics on human health, the global response to SARS-CoV-2, and the development of different vaccine platforms, with particular emphasis on those based

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto



on attenuated viral vectors, like the poxvirus MVA. The results obtained in preclinical models, the response to emerging variants, the neurological effects associated with infection, and the transfer of technology to industrial-scale production are described. In addition, the application of these platforms to other globally relevant pathogens, such as HIV, Ebola, Zika, Chikungunya, and Mpox, is analyzed, and the remaining challenges in preparedness for future health threats are discussed.

1. PANDEMIAS Y DIVERSIDAD DE PATÓGENOS HUMANOS

Las enfermedades infecciosas han acompañado a la humanidad desde sus orígenes, estableciendo de manera decisiva la evolución de las sociedades. La historia recoge muchos episodios pandémicos que han provocado una elevada mortalidad y profundas alteraciones sociales, económicas y demográficas. Entre los primeros registros que tenemos, se encuentra la peste Antonina (años 165-180), a la que siguieron la peste negra (1347-1351), viruela (1520) y otras enfermedades infecciosas que diezmaron poblaciones enteras (1,2). La viruela ha provocado una de las mayores tasas de mortalidad a lo largo de la historia (<https://www.cdc.gov/smallpox/about/history.html>).

Uno de los ejemplos más dramáticos de agente infeccioso fue la gripe española de 1918, que se estima causó entre 50 y 100 millones de muertes a nivel mundial (3). Este evento puso de manifiesto la enorme capacidad destructiva de los virus respiratorios emergentes y la limitada capacidad de respuesta sanitaria de la época. A pesar de los avances científicos logrados durante el siglo XX, las pandemias han seguido apareciendo, recordándonos de forma recurrente la vulnerabilidad de la especie humana frente a los agentes infecciosos.

La especie humana actúa como hospedadora de una enorme diversidad de agentes patógenos. Se calcula que existen más de 1.500 microorganismos conocidos con capacidad para infectar al ser humano, como virus, bacterias, hongos y parásitos. Muchos de estos patógenos han acompañado a la humanidad durante si-

glos, mientras que otros han emergido recientemente como consecuencia de cambios ecológicos, demográficos y sociales.

Hasta bien entrado el siglo XX, lo que conocíamos sobre la biología de estos agentes era limitado. No fue hasta el desarrollo de la microbiología, la virología y la inmunología modernas cuando se comenzaron a comprender en profundidad los mecanismos de infección, replicación y transmisión de los patógenos. A pesar de estos avances, muchas enfermedades infecciosas continúan teniendo un impacto significativo en la salud humana.

Ejemplos claros de ello son el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), identificado a comienzos de la década de 1980 con una tasa de mortalidad de unos 40 millones de personas fallecidas desde el inicio de la pandemia (4-6). Esta pandemia impulsó el desarrollo de terapias antivirales altamente eficaces, aunque aún no se dispone de una vacuna preventiva, y la enfermedad continúa causando aproximadamente 600.000 muertes anuales en todo el mundo. De forma similar, la hepatitis C sigue siendo una causa importante de mortalidad, estimándose en unas 350.000 a 400.000 personas que mueren actualmente por complicaciones de la infección a pesar de la disponibilidad de tratamientos antivirales curativos (7). En el caso del virus de la gripe, hemos padecido a partir del siglo XX varias pandemias con altas tasas de mortalidad, como las de 1918, 1957, 1968, 1977 y 2009, y debemos estar preparados para una potencial pandemia con efectos que pueden ser devastadores, como la producida por el virus de la gripe aviar H5N1, que causa gran mortalidad en aves e infecta también mamíferos, aunque de momento no se ha extendido a humanos. Otros virus, como el Dengue, Zika, Chikun-



gunya o Ébola, infectan cada año a miles de personas, especialmente en regiones con sistemas sanitarios frágiles. Estos patógenos ponen de relieve la necesidad de estrategias globales de vigilancia, prevención y control.

2. PATÓGENOS EMERGENTES Y AMENAZAS PANDÉMICAS ACTUALES

La Organización Mundial de la Salud ha identificado una serie de patógenos con alto potencial pandémico, considerados prioritarios desde el punto de vista de la salud pública. Entre ellos se incluyen virus responsables de fiebres hemorrágicas, diferentes tipos de gripe, coronavirus, fiebre amarilla, Rift Valley fever, Ebola, Crimean-Congo, Zika, Chikungunya, Nipah, así como otros agentes aún no caracterizados, englobados bajo el concepto de “enfermedad X”.

La mayoría de estas infecciones tienen un origen zoonótico, es decir, se transmiten desde animales al ser humano, a menudo a través de vectores como insectos o mediante reservorios animales como murciélagos y roedores. La creciente interacción entre humanos y animales, junto con la globalización y el cambio climático, ha incrementado el riesgo de aparición de nuevos patógenos.

Un ejemplo reciente es la aparición de brotes de enfermedades de origen incierto en distintas regiones del mundo, algunas de ellas con elevada mortalidad en períodos muy cortos de tiempo. Estos episodios ponen de manifiesto la necesidad de estar preparados para identificar rápidamente el agente causal y desarrollar estrategias de control eficaces. En este marco, la Unión Europea ha anunciado para 2026 la convocatoria EU-Vaccine call HORIZON-HLTH-2026-01-DISEASE-04: “Development of novel vaccines for viral pathogens with epidemic potential”, centrada en el desarrollo de vacunas frente a virus con alto potencial epidémico, entre los que se incluyen Junin, Lassa, Andes, Hantaan, Sin Nombre, Nipah/Hendra, Enterovirus D68 y el virus de la Encefalitis Equina Venezolana. Ante la ausencia de vacunas aprobadas por las agencias re-

guladoras frente a estas infecciones víricas, es esencial que la comunidad científica y las empresas actúen en la preparación de nuevas vacunas y se implementen ensayos clínicos que avalen su utilidad en las personas. Conviene prevenir antes de que el virus se extienda en la población, como podría ocurrir con el virus de la gripe H5N1 si se adaptara a humanos produciendo infecciones con efectos mortales, lo que podría generar una pandemia de consecuencias impredecibles.

3. LA PANDEMIA DE SARS-COV-2/COVID-19 Y RESPUESTA INICIAL

En este contexto histórico se inscribe la pandemia de COVID-19, causada por el coronavirus, Virus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2) (8-10). Desde su aparición a finales de 2019, el virus se propagó rápidamente por todos los continentes, infectando a más de 700 millones de personas y provocando hasta finales del año 2025 unos 7.1 millones de fallecimientos en todo el mundo, aunque se consideran estas cifras mucho más elevadas por causas directas o indirectas relacionadas con la infección. En España, la cifra de muertes asociadas a la COVID-19 se sitúa en torno a las 125.000 personas, lo que refleja el impacto profundo de la pandemia a nivel nacional (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>).

El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud declaró oficialmente la enfermedad COVID-19 causada por el SARS-CoV-2, como una pandemia. En ese momento, la situación era de enorme incertidumbre, con un rápido aumento del número de casos y una falta evidente de herramientas diagnósticas, antivirales y vacunas específicas.

Desde el inicio, resultó evidente que se contaba con grupos de investigación altamente capacitados para abordar el problema desde una perspectiva científica. Sin embargo, también se hizo patente la necesidad de una intervención económica y estructural inmediata por parte de los Estados para apoyar estos esfuerzos.



Las primeras prioridades fueron el desarrollo de métodos diagnósticos rápidos, la identificación de posibles antivirales y, de manera fundamental, el desarrollo de vacunas eficaces. En este contexto, varios grupos de investigación comenzamos a trabajar de forma coordinada, compartiendo información, secuencias genéticas y recursos, en un esfuerzo colectivo sin precedentes. Nuestro grupo de investigación se involucró rápidamente en el desarrollo de una vacuna eficaz contra el coronavirus, debido a la experiencia previa en desarrollo de vacunas frente a otros virus emergentes y reemergentes como el VIH, Hepatitis C, Ébola, Zika y Chikungunya (11).

La pandemia de COVID-19 no solo supuso una crisis sanitaria sin precedentes en la era moderna, sino que también evidenció carencias estructurales en los sistemas de salud, así como en la preparación frente a emergencias y en los mecanismos de coordinación internacional. Al mismo tiempo, impulsó un esfuerzo científico global sin precedentes, acelerando el desarrollo de vacunas, antivirales y métodos de diagnóstico rápido a una velocidad nunca antes vista. Tanto la investigación sobre VIH como SARS-CoV-2 han aportado importantes avances en la preparación y desarrollo de vacunas y antivirales con alta especificidad (4,5).

4. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICA EN EL DISEÑO VACUNAL FRENTE A SARS-COV-2

Desde un punto de vista virológico y estructural, los coronavirus presentan una morfología altamente característica. El SARS-CoV-2 es un virus con envuelta de naturaleza lipídica, y un genoma de ARN de aproximadamente 30.000 nucleótidos, que codifica un conjunto limitado de proteínas estructurales y no estructurales. Entre estas, la proteína S (Spike), que se proyecta hacia el exterior de la envuelta, desempeña un papel esencial, ya que media la unión del virus a través del dominio RBD de la proteína S al receptor celular ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2) y su posterior entrada en la célula huésped (12).

La proteína S se localiza en la superficie del virus, formando estructuras triméricas que sobresalen de la membrana viral. Esta característica la convierte en el principal objetivo del sistema inmunitario y, por tanto, en el candidato idóneo para el desarrollo de vacunas. La experiencia previa adquirida durante los brotes de otros coronavirus como el SARS-CoV en 2002 y MERS-CoV en 2012 había demostrado que los anticuerpos dirigidos contra la proteína S eran capaces de bloquear la infección. En el caso del SARS-CoV de 2002, la infección afectó a aproximadamente 8.000 personas y presentó una tasa de mortalidad cercana al 15%. Posteriormente, el MERS-CoV emergió en 2012, con una tasa de mortalidad del 30%, asociado principalmente a la interacción entre humanos y camellos en Arabia Saudí. En ambos casos, se identificó a la proteína S como el principal determinante antigénico responsable de inducir respuestas inmunes protectoras frente a la infección.

Por esta razón, desde el inicio de la pandemia de COVID-19, la atención se centró de forma casi exclusiva en la proteína S. En cuanto se publicó la secuencia genómica del SARS-CoV-2, en enero de 2020, solicitamos la síntesis del gen codificante de la proteína S a una empresa, que fue rápidamente distribuido entre distintos grupos de investigación. Este intercambio inmediato de información genética constituyó uno de los aspectos más positivos de la respuesta científica inicial a la pandemia.

La estrategia adoptada por nuestro grupo de investigación para el desarrollo del vector vacunal se basó en el uso del virus vaccinia modificado de Ankara (MVA). Este virus, ampliamente utilizado en investigación y como vacuna frente a la viruela, pertenece al mismo género Orthopoxvirus que el virus de la viruela humana y símica (Mpxv), presentando un excelente perfil de seguridad, ya que es incapaz de replicarse de forma productiva en células humanas (11).



El genoma del MVA, compuesto por aproximadamente 200.000 nucleótidos de ADN, permite la inserción de múltiples genes heterólogos, unos 25.000 pares de bases, sin comprometer su estabilidad. En este caso, el gen codificante de la proteína S del SARS-CoV-2 fue insertado en una región específica del genoma del vector viral (timidina quinasa, TK), de forma que se expresa como si se tratara de una proteína propia del virus.

Una vez infectadas las células con el vector recombinante, estas comenzaban a producir la proteína S, que se localizaba correctamente en la membrana celular gracias a la presencia de un dominio transmembrana. La proteína adoptaba su conformación trimérica natural, lo que favorecía una presentación antigénica adecuada y una respuesta inmunitaria eficaz. Al virus recombinante lo llamamos de forma abreviada MVA-S (13).

Los estudios de expresión en cultivos celulares confirmaron que la producción de la proteína S era intensa pero transitoria. Para evaluar la duración de la expresión se utilizó un gen reportero, la luciferasa, observándose que la expresión se mantenía durante aproximadamente 48 horas. Este carácter transitorio resultaba deseable, ya que evitaba una estimulación prolongada que pudiera generar efectos inflamatorios adversos.

A partir de los resultados obtenidos, se planteó la necesidad de seleccionar el candidato vacunal más adecuado para dirigir la investigación hacia fases más avanzadas de desarrollo. Uno de los criterios fundamentales fue la viabilidad regulatoria. Se consideró que resultaría más sencillo obtener la aprobación de una vacuna basada en un vector previamente utilizado en ensayos clínicos en humanos, frente a una plataforma completamente experimental.

En este contexto, se optó por el vector MVA-S, que expresa la proteína S completa representado como la opción más realista para su eventual aprobación. Aunque otras combinaciones, como la vacunación heteróloga con ADN y MVA, inducían respuestas celulares más

intensas, se valoró que el perfil del MVA-S era suficiente para proporcionar protección y presentaba ventajas desde el punto de vista regulatorio.

Durante este periodo, se llevaron a cabo ensayos intensivos de inmunogenicidad en ratones entre los meses de abril y junio de 2020. La vacuna fue presentada públicamente como una de las candidatas desarrolladas en España, aunque aún se encontraba en fase preclínica. En junio del 2020, el vector fue transferido a la empresa Biofabri (CZ Vaccines) para su producción bajo condiciones de buenas prácticas de fabricación (GMP).

5. EVALUACIÓN DE LA EFICACIA VACUNAL EN MODELO MURINO

Uno de los mayores retos fue la evaluación de la inmunogenicidad y eficacia en modelos animales susceptibles al SARS-CoV-2. Los ratones convencionales no son fácilmente infectables por el virus, por lo que fue necesario disponer de modelos adaptados transgénicos por expresar el receptor humano ACE2 utilizado por el SARS-CoV-2 para su infección celular. La obtención de estos animales resultó compleja debido a su gran demanda mundial y se retrasó hasta el mes de agosto de 2020.

Priméramente, los ratones convencionales C57/BL6 fueron inmunizados con distintas formulaciones, incluyendo el vector MVA-S solo, combinaciones con vacunas de ADN-S y esquemas de una o dos dosis. La respuesta humoral de anticuerpos se evaluó mediante la recolección de suero y la realización de ensayos ELISA frente a la proteína S completa y frente al dominio RBD. Los resultados mostraron una producción robusta de anticuerpos específicos, tal como se había previsto. Estos anticuerpos eran capaces de unirse eficazmente a los antígenos S y RBD y, lo que es más relevante, de neutralizar el virus (13).

Para evaluar la capacidad neutralizante, se utilizaron pseudovirus y virus vivo SARS-CoV-2 en condiciones controladas. En presencia de suero procedente de ratones vacunados, la re-



plicación viral se veía drásticamente reducida, hasta el punto de que en muchos casos no se detectaba virus viable.

De forma paralela, se analizó la respuesta celular, considerada esencial para una protección eficaz y duradera. Se observó una activación significativa de linfocitos T CD4+ y CD8+, capaces de reconocer células infectadas y eliminarlas, siendo la población activada mayoritariamente de células de memoria efectoras. Esta respuesta celular se detectó en todos los esquemas vacunales evaluados, aunque con variaciones en su intensidad (13).

Para determinar la eficacia vacunal, se llevaron a cabo experimentos de desafío por inoculación intranasal del SARS-CoV-2 en condiciones de alta bioseguridad BSL-3. Los animales vacunados con el vector MVA-S administrado por ruta intramuscular, que recibieron tanto una como dos dosis del vector, mostraron una protección completa frente a la pérdida de peso y la mortalidad, mientras que los animales no vacunados desarrollaron una infección grave que conducía a su fallecimiento.

El análisis de los tejidos pulmonares confirmó estos resultados. En los animales vacunados no se detectaba replicación viral, mientras que en los no vacunados se observaba una infección extensa y lesiones pulmonares severas. Una sola dosis proporcionaba una protección significativa, mientras que dos dosis ofrecían una protección completa frente al daño pulmonar (13).

6. DURACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNITARIA

Uno de los aspectos fundamentales en el desarrollo de cualquier vacuna es la duración de la inmunidad inducida. En el caso de las vacunas frente a SARS-CoV-2, esta cuestión era muy importante debido a la rápida propagación del virus y a la aparición continua de nuevas variantes. Desde el inicio, se planteó la posibilidad de que fueran necesarias dosis de refuerzo para mantener una protección adecuada a lo largo del tiempo.

En los estudios realizados en modelos murinos, se evaluó la persistencia de la respuesta inmunitaria tras la vacunación inicial (14). Los animales fueron inmunizados y, tras un periodo de varios meses, se procedió a su revacunación con el objetivo de analizar tanto la durabilidad de la inmunidad como la posible aparición de efectos adversos asociados a dosis repetidas.

Los resultados mostraron que los animales que habían sido vacunados mantenían niveles elevados de anticuerpos neutralizantes, al menos durante seis meses. Tras la administración de una dosis de refuerzo, no se observaron efectos adversos significativos, y la respuesta inmunitaria se veía reforzada de manera notable. Estos datos indicaban que la vacuna podía ser administrada de forma repetida sin comprometer la seguridad, un aspecto clave, ya que existía la posibilidad de llevar a cabo campañas de vacunación periódicas. Asimismo, los animales revacunados y posteriormente infectados mostraron una protección completa frente a la enfermedad, con lo que se confirmaba que la inmunidad inducida era no solo funcional si no duradera. También se estableció que se conseguía una alta inmunidad tras la vacunación por la vía de mucosas (15).

7. AMPLIACIÓN DE LOS ESTUDIOS DE EFICACIA A OTROS MODELOS ANIMALES (HÁMSTERES Y MACACOS)

Para reforzar los datos obtenidos en modelos murinos, se realizaron estudios adicionales en hámsteres, un modelo ampliamente utilizado para el estudio de la COVID-19 debido a su alta susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2. En estos experimentos, los animales recibieron por ruta intramuscular dos dosis de la vacuna MVA-S y posteriormente fueron expuestos al coronavirus por vía intranasal (16).

Los resultados mostraron que los hámsteres vacunados desarrollaban niveles elevados de anticuerpos neutralizantes, con una reducción significativa de la carga viral y una protección



clara frente a las lesiones pulmonares. En los animales no vacunados, por el contrario, se detectaban lesiones extensas y una replicación viral elevada.

Además, los sueros obtenidos de los hámsteres vacunados fueron capaces de neutralizar distintas variantes emergentes del virus, confirmando de nuevo la amplitud de la respuesta inmunitaria inducida por la vacuna (16).

El paso siguiente en la valoración preclínica requerida por las agencias reguladoras antes del uso de la vacuna en humanos, fue la realización de estudios en macacos no humanos, ya que son considerados uno de los modelos más cercanos a la infección humana (17). La realización de estos estudios supuso un desafío considerable, tanto por la disponibilidad limitada de animales debido a la alta demanda internacional, complejidad logística y económica asociada.

Finalmente, gracias a colaboraciones internacionales consolidadas a lo largo de los años, fue posible llevar a cabo los experimentos en primates no humanos. Los macacos fueron divididos en grupos de vacunados y no vacunados, siguiendo un esquema de inmunización intramuscular a las 0 y 4 semanas. Posteriormente, a las 8 semanas, se procedió al desafío por infección intranasal del SARS-CoV-2.

Los resultados mostraron que los animales vacunados presentaban una reducción significativa de la replicación viral en lavados broncoalveolares, así como una disminución de la carga viral en el tracto respiratorio. El análisis histológico de los pulmones reveló que los macacos vacunados estaban protegidos frente al daño pulmonar, mientras que los no vacunados desarrollaban lesiones características de la infección (17).

Un aspecto especialmente relevante fue la evaluación de la tormenta de citoquinas, considerada uno de los principales factores responsables de la gravedad y mortalidad en la COVID-19. En los macacos no vacunados se detectaron niveles elevados de diversas citoqui-

nas proinflamatorias, mientras que en los animales vacunados se observó una reducción significativa de estas moléculas, lo que indicaba un control eficaz de la respuesta inflamatoria por la vacunación (17).

8. CONTROL DEL DAÑO CEREBRAL POR LA VACUNACIÓN.

Uno de los aspectos que más preocupaban de la infección por SARS-CoV-2 fue la aparición de manifestaciones neurológicas en un porcentaje significativo de pacientes. Entre los síntomas descritos se incluían la pérdida del olfato, cefaleas persistentes, deterioro cognitivo, alteraciones motoras, epilepsia y encefalopatías.

Con el objetivo de comprender mejor estos efectos, se llevaron a cabo estudios con modelos murinos, en colaboración con otros centros de investigación. A los animales se les inmunizó con la vacuna MVA-S y posteriormente fueron infectados con el SARS-CoV-2, estableciéndose distintos grupos experimentales que incluían controles no vacunados, animales vacunados con una dosis y animales vacunados con dos dosis (18).

El análisis histopatológico del cerebro reveló en los animales no vacunados, que el virus era capaz de infectar diversas regiones cerebrales. Esta infección se asociaba principalmente a neuronas, observándose la presencia de proteínas virales en distintas áreas del cerebro.

En contraste, los animales vacunados mostraban una protección completa frente a la infección cerebral (18). En aquellos que habían recibido dos dosis de la vacuna, no se detectaba replicación viral en ningún área del cerebro, lo que indicaba que la vacunación no solo prevenía la enfermedad respiratoria, sino que también protegía frente a las complicaciones neurológicas asociadas a la infección, lo que implicaba evitar el desarrollo de COVID-19 persistente.



9. APARICIÓN DE VARIANTES DEL SARS-COV-2

Desde los primeros meses de la pandemia, se hizo evidente que el SARS-CoV-2 presentaba una capacidad considerable de mutación. A pesar de contar con un genoma relativamente grande para un virus ARN, de aproximadamente 30.000 nucleótidos, la aparición de variantes con mutaciones en la proteína S fue constante.

Este fenómeno de escape a los anticuerpos neutralizantes (19-21), planteó un desafío adicional para el desarrollo de vacunas, ya que las mutaciones en la proteína S podían afectar al reconocimiento por los anticuerpos neutralizantes. Conscientes de esta posibilidad, los estudios preclínicos incluyeron la evaluación de la eficacia de los anticuerpos inducidos frente a distintas variantes del virus (alfa, beta, delta, ómicron).

Los análisis demostraron que los animales inmunizados con dos dosis de la vacuna generaban anticuerpos capaces de neutralizar múltiples variantes del SARS-CoV-2, incluidas aquellas que se fueron imponiendo de forma sucesiva. En el caso de la variante ómicron, se observó que eran necesarios títulos de anticuerpos más elevados para lograr una neutralización eficaz, sin embargo, la protección seguía siendo significativa.

Estos resultados confirmaron que la plataforma vacunal presentaba una cierta capacidad de protección cruzada, un aspecto especialmente relevante en un contexto de evolución viral continua. Además, se comprobó que los niveles de anticuerpos se mantenían relativamente estables durante al menos seis meses, incluso frente a variantes emergentes.

10. OPTIMIZACIÓN DEL VECTOR VACUNAL

Con la aparición continua de nuevas variantes del SARS-CoV-2, se consideró necesario optimizar el diseño del antígeno vacunal. En este contexto, desarrollamos una versión modificada de la proteína S, denominada S3P, que in-

corporaba una serie de mutaciones, incluyendo la introducción de tres prolinas y mutaciones en el dominio de procesamiento de la proteína S, con el objetivo de estabilizar la conformación trimérica de dicha proteína y activar una mayor capacidad inmune (22).

Esta modificación permitió aumentar la estabilidad del antígeno y mejorar su expresión. El nuevo vector, denominado MVA-S3P, mostró una producción más elevada de la proteína S y una respuesta inmunitaria robusta incluso con una sola dosis. Además, los animales vacunados, tanto ratones como hámsteres, con este vector presentaron una menor pérdida de peso y una protección eficaz frente a la infección (22-24).

A medida que surgían nuevas variantes de SARS-CoV-2, se fueron desarrollando vectores adicionales de MVA para beta, delta y variantes de ómicron, que incorporaban las mutaciones específicas correspondientes a la proteína S, permitiendo una adaptación rápida de la plataforma vacunal (22).

Además, con la finalidad de ampliar la capacidad inmunogénica de la vacuna MVA-S3P frente a SARS-CoV-2 se diseñaron estrategias de vacunación basadas en la proteína RBD en forma trimérica conteniendo mutaciones representativas de las variantes emergentes (22). También se incrementó la amplitud y durabilidad de las respuestas inmunes mediante estrategias de inmunización combinada en *prime/boost* de vectores, i.e., ARNm y MVA (25), NDV y MVA (26), DREP y MVA (27), así como proteínas multiméricas de mayor espectro de acción con representación de dominios de las proteínas estructurales y accesorias (28). Estos estudios han servido para definir la importancia de la combinación heteróloga de vectores vacunales frente a SARS-CoV-2, naturaleza del vector, amplitud inmune frente a variantes, durabilidad y su correlación con protección. Otros investigadores han generado candidatos vacunales de MVA expresando antígenos de SARS-CoV-2 y realizado ensayos preclínicos y clínicos como se describe en la revisión de 2023 (11).



11. REFLEXIONES SOBRE EL DESARROLLO VACUNAL FRENTE AL SARS-COV-2/COVID-19

El desarrollo de vacunas frente a la COVID-19 no puede considerarse un proceso cerrado. La aparición constante de variantes y la persistencia del virus en la población hacen necesario un esfuerzo continuo de investigación y adaptación. El objetivo último es la obtención de una vacuna universal capaz de inducir una inmunidad esterilizante y duradera frente a los coronavirus.

Hasta alcanzar ese objetivo, la experiencia adquirida durante la pandemia ha demostrado que el desarrollo de distintas plataformas vacunales, la colaboración internacional y la flexibilidad regulatoria son elementos esenciales para una respuesta eficaz frente a futuras amenazas pandémicas.

Las vacunas basadas en ARN mensajero (ARNm), desarrolladas y administradas durante la pandemia de COVID-19 a millones de personas de todas las edades, han demostrado una elevada eficacia frente a la infección por SARS-CoV-2 (29-31). Estas vacunas han supuesto la incorporación de una nueva plataforma vacunal caracterizada por su rápida producción, así como por una seguridad y eficacia ampliamente demostradas. Su mecanismo de acción se basa en la rápida síntesis de proteínas que sigue a la entrada en la célula del ARNm encapsulado en nanopartículas lipídicas (LNP) e inducción de una potente respuesta inmune humoral y celular, mediante la activación de linfocitos B productores de anticuerpos neutralizantes y de linfocitos T (CD4+ y CD8+), esenciales para la eliminación de las células infectadas.

Debido a su facilidad de diseño y producción, junto con su elevada capacidad para inducir respuestas inmunológicas tanto de tipo B como T, las vacunas basadas en ARNm están siendo ampliamente exploradas como candidatos vacunales frente a otras patologías, incluyendo distintos tipos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas y múltiples infecciones víricas. Limitaciones de la vacunación con ARNm

son el coste, la dificultad para llegar a países pobres, requerimiento en la cadena de frío y reducida durabilidad de la respuesta inmune. Además de las vacunas de ARNm, durante la pandemia se desarrollaron otras plataformas vacunales, tales como vectores virales atenuados que expresan antígenos del SARS-CoV-2 (incluyendo adenovirus y poxvirus), proteínas recombinantes formuladas con adyuvantes, virus SARS-CoV-2 inactivado, vectores de ADN y otras estrategias innovadoras. Estas plataformas han sido evaluadas mediante numerosos ensayos preclínicos y clínicos, lo que ha permitido demostrar que, si bien muchas de ellas inducen respuestas inmunes eficaces, en algunos casos la duración de dicha protección resulta limitada.

En este contexto, diversos estudios han puesto de manifiesto que la inmunización heteróloga, basada en la combinación secuencial de distintas plataformas vacunales (*prime-boost* heterólogo), puede mejorar tanto la magnitud como la durabilidad de la respuesta inmune. Esta estrategia fue demostrada por nuestro grupo hace varias décadas (32, 33) siendo una línea muy activa de investigación en vacunas. La elección de la estrategia vacunal más adecuada dependerá de la naturaleza del patógeno, presentación antigénica y de las características específicas de la enfermedad, siendo el objetivo final la eliminación eficaz del agente infeccioso.

La pandemia de COVID-19 evidenció de forma clara que la colaboración nacional e internacional entre instituciones públicas y privadas es esencial para el desarrollo rápido y eficaz de vacunas frente a patógenos emergentes. Esta cooperación ha permitido orientar la investigación hacia cuestiones clave aún abiertas, tales como la posible erradicación del SARS-CoV-2, las consecuencias inmunológicas y clínicas del COVID-19 persistente, la prolongación de la duración de la inmunidad protectora, el desarrollo de vacunas frente a todas las variantes virales, la optimización de esquemas de vacunación combinada y la viabilidad de una vacuna universal esterilizante. Todas



estas cuestiones están siendo actualmente abordadas mediante investigaciones en curso. El éxito demostrado durante la pandemia en el desarrollo acelerado de vacunas seguras y altamente eficaces ha abierto nuevas oportunidades para la industria biotecnológica y farmacéutica. El establecimiento de tecnologías avanzadas para la detección rápida de agentes patógenos, el análisis funcional de sus genomas, el estudio de su interacción con la célula huésped y el desarrollo de estrategias de control mediante antivirales, incluyendo anticuerpos monoclonales y agentes químicos, ha impulsado un amplio abanico de aplicaciones terapéuticas y preventivas.

12. APLICACIÓN VACUNAL DE LA PLATAFORMA MVA A OTROS PATÓGENOS CON POTENCIAL EPIDÉMICO/PANDEMICO

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera prioritario el desarrollo de vacunas profilácticas frente a enfermedades para las que aún no disponemos de vacunas aprobadas por las agencias reguladoras. El objetivo es estar preparados, al menos a nivel preclínico, para hacer frente a patógenos emergentes y reemergentes con potencial epidémico y pandémico. A continuación, se describen una serie de candidatos vacunales que han sido desarrollados por nuestro grupo de investigación en el CNB-CSIC y han demostrado su capacidad inmunológica y eficacia a nivel preclínico contra VIH, Hepatitis C, Chikungunya, Ébola, Zika, Mpox, basados en la utilización de recombinantes del virus vaccinia, estirpe MVA.

En el caso del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), un retrovirus con genoma ARN de unos 9800 nucleótidos, y causante del sida, con más de 40 millones de fallecimientos desde su aparición en 1981 y unas 600.000 muertes anuales, hemos generado vectores de los poxvirus atenuados (MVA y NYVAC) que expresan distintos antígenos (Env, Gag, Pol, Nef) de los subtipos B y C del VIH más prevalentes a nivel mundial, así como genes equivalentes del virus de la inmunodeficiencia de simio.

Hemos demostrado que estos vectores inducen una alta respuesta inmune frente al VIH con activación de células T CD4+ y CD8+ en ratones y macacos (34-38). En España llevamos a cabo el primer ensayo clínico en fase I con la vacuna MVA-B expresando cuatro antígenos Env-Gag-Pol-Nef con resultados muy positivos de inmunogenicidad (39, 40), y posteriormente también iniciamos otro ensayo clínico fase I con individuos VIH positivos (41-43), con resultados prometedores. Se ha completado también en el Reino Unido otro ensayo clínico profiláctico fase I con la combinación de vectores en *prime/boost* de DNA-C/MVA-C y proteína Env con resultados de incremento de la inmunogenicidad (44). En un posterior ensayo clínico fase Ib hemos demostrado la importancia de la administración simultánea de vectores de DNA-C, NYVAC-C y proteína Env en el grado de inmunogenicidad y durabilidad (45), así como también la capacidad de respuesta inmune de individuos vacunados con MVA-B tras una posterior inmunización 4 años después con la misma vacuna (46). Estamos optimizando la expresión de la proteína Env del VIH con capacidad para inducir anticuerpos neutralizantes de amplio espectro de acción contra el VIH y su evaluación funcional en macacos.

En el caso del virus de la hepatitis C (HCV), un virus ARN de 9600 nucleótidos perteneciente a la familia Flaviviridae (género Hepacivirus), causante de hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular, con más de 50 millones de personas afectadas, y para el que no existe vacuna, hemos generado un virus recombinante MVA-HCV, que expresa todas las proteínas estructurales y no estructurales del HCV de forma estable y que induce respuestas inmunes amplias frente a HCV en modelos animales (47). Hemos establecido también protocolos de inmunización heteróloga combinada de vectores que inducen mayores respuestas que la vacunación homóloga (48). Aunque se han desarrollado antivirales muy eficaces frente a HCV que producen curación de la enfermedad, sin embargo, dicho éxito no se ha



traducido en la consecución de una vacuna aprobada. Así pues, el objetivo es trasladar esta investigación de la vacuna MVA-HCV a la clínica.

En relación al virus Chikungunya, perteneciente a la familia *Togaviridae* (género *Alpha-virus*) que se transmite a través de mosquitos (*Aedes aegypti* y *A. albopictus*), con un genoma ARN de unos 11.800 nucleótidos, y que produce grandes dolores articulares e incluso muerte en 0.1% de los infectados con unos 500.000 casos de infección en 2025, hemos generado un vector de MVA-CHIKV que expresa todas las proteínas estructurales del virus Chikungunya y demostrado su capacidad protectora y esterilizante en modelo murino (49, 50). Estos estudios se han extendido al modelo de macaco (51, 52) con resultados semejantes al murino y sería deseable llevar esta vacuna a fases clínicas. Colaboramos con el grupo de Peter Liljeström en el Instituto Karolinska de Suecia en la combinación de replicones y MVA para inducir respuestas inmunes más duraderas. Las dos únicas vacunas aprobadas se basan en el virus atenuado y en partículas virales (VLPs).

En el caso del virus Zika perteneciente a la familia *Flavivirus* que se trasmite por picadura de mosquitos *Aedes*, produciendo complicaciones neurológicas y graves lesiones en el embarazo como microcefalia, aunque con bajas tasas de mortalidad, pero decenas de miles de casos anuales, y con un genoma de ARN de 10.794 nucleótidos, hemos generado un candidato vacunal de MVA-ZIKV que expresa las proteínas prM-E en forma de partículas virales (VLPs) que confieren en modelo murino una protección completa frente al desafío viral (53, 54). Debido a que no existe una vacuna aprobada, nuestro objetivo es trasladar esta investigación a la clínica.

En relación al virus Ebola, perteneciente a la familia *Filovirus* con un genoma de ARN de unos 19.000 nucleótidos que produce fiebres hemorrágicas con altas tasas de mortalidad (entre 40-90%) según la especie, con más de 30.000 casos y 15.000 muertes hemos gene-

rado un vector de MVA-EBOV que expresa los antígenos GP y VP40 del virus Ebola en forma de partículas virales VLPs, estirpes Sudan y Zaire, que en modelo de ratón susceptible protege con una sola dosis en un 80% frente a la infección por la estirpe Zaire (55, 56). Estamos caracterizando la naturaleza de las respuestas inmunes que se activan y son esenciales para el control de la infección por el virus Ébola. Colaboramos con el grupo de Cesar Muñoz-Fontela en Hamburgo que dispone de un animalario BSL-4. Aunque hay dos estrategias vacunales aprobadas basadas en vectores virales, nuestro objetivo es establecer un proceso óptimo de vacunación que confiera inmunidad amplia y duradera y poder transferir estos avances a la clínica.

En relación al poxvirus de la viruela del mono (Mpx) causante en 2022 de la epidemia vírica Mpx por el clado IIb originario de África central, este virus se extendió rápidamente por transmisión de contacto directo entre personas infectadas. Afectó a España en el año 2022, propagándose ampliamente por Europa, las Américas, Oceanía y otros continentes, con más de 100.000 casos en unos 100 países. Posteriormente en 2024 apareció una forma infecciosa más virulenta, el Mpx del clado Ib, surgido también en África. La OMS declaró Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional (ESPII) en 2022 para el clado IIb y en 2024 para el nuevo clado Ib. Aunque hay vacunas aprobadas frente a la viruela humana que se han usado contra Mpx, estamos trabajando como parte del proyecto europeo H2020-RESILIENCE en la consecución de vacunas optimizadas con vectores atenuados de MVA y NYVAC con mayor capacidad inmunogénica y durabilidad que las vacunas actuales frente a viruela humana y símica, así como con proteínas virales que confieren protección y con ARNm con capacidad de control frente a poxvirus. Gracias a los avances realizados en la erradicación de la viruela humana y al desarrollo de procedimientos de control con antivirales y vacunas, se ha podido actuar con rapidez y contener la epidemia de Mpx.



Hemos demostrado que una combinación de proteínas estructurales del virus con capacidad para producir anticuerpos neutralizantes son capaces de inducir en ratones una respuesta inmune protectora frente a la infección intranasal por el virus vaccinia, estirpe WR (57). No obstante, hay que estar vigilantes pues el virus en la naturaleza sigue evolucionando y desarrollando variantes que pueden llegar a tener un mayor grado de virulencia, por lo que su seguimiento es esencial para que esto no ocurra. Además, hay que tener en cuenta que el virus causante de la viruela humana se caracteriza por múltiples alteraciones en su genoma, que incluyen mutaciones puntuales, inserciones, deleciones, en un contexto de más pérdida que de ganancia de secuencias, pero aun manteniendo su alta virulencia, por lo que llevar a cabo la vigilancia sobre la evolución y transmisión del virus Mpox en humanos es requisito esencial de investigación para evitar su extensión.

13. CONCLUSIONES Y RETOS PENDIENTES PARA EVITAR FUTURAS AMENAZAS VIRALES

En relación a los apartados anteriores, podemos concluir lo siguiente: 1) la vacunación continúa siendo la mejor estrategia de control de agentes patógenos; 2) la vacunación con ARNm ha revolucionado el campo de las vacunas por su facilidad de producción y eficacia; 3) las vacunas basadas en recombinantes virales atenuados son muy eficientes para inducir respuestas inmunes amplias y duraderas; 4) aunque no se ha conseguido una vacuna eficaz contra el VIH, estudiando dicho virus hemos aprendido mucho sobre la generación de antivirales y el modo de acción de las vacunas; 5) el desarrollo de vacunas frente a virus emergentes con potencial epidémico/pandémico es una prioridad para estar preparados y actuar con rapidez tan pronto como aparece un patógeno humano.

Las crisis sanitarias recientes han puesto de manifiesto que el mundo sigue siendo altamente vulnerable frente a las enfermedades

infecciosas emergentes. En particular, la pandemia provocada por el virus responsable de la COVID-19 evidenció tanto los avances científicos logrados en las últimas décadas como las debilidades estructurales de muchos sistemas sanitarios. A pesar del rápido desarrollo de vacunas y del progreso en la investigación biomédica dentro del campo de la virología e inmunología, la respuesta global mostró desigualdades significativas en el acceso a recursos, capacidades de diagnóstico y disponibilidad de tratamientos.

Uno de los principales aprendizajes es la necesidad de fortalecer los sistemas de vigilancia epidemiológica y de detección temprana de patógenos emergentes. La identificación rápida de nuevos virus y la capacidad de compartir datos de forma transparente y coordinada resultan fundamentales para prevenir brotes a gran escala. En este contexto, el papel de instituciones internacionales como la OMS es clave para coordinar estrategias globales, establecer protocolos de actuación y facilitar la cooperación científica entre países.

Asimismo, se hace evidente la importancia de invertir de manera sostenida en investigación científica y desarrollo tecnológico. Fruto de ello es que gracias a los avances producidos en el estudio de otros agentes pandémicos como el VIH se pudo actuar con rapidez en la generación de vacunas y antivirales frente al SARS-CoV-2. La creación de plataformas de vacunas más rápidas, seguras y altamente eficaces, el desarrollo de antivirales de amplio espectro de acción y el fortalecimiento de la infraestructura de laboratorios son elementos esenciales para mejorar la preparación ante futuras amenazas sanitarias. Estas inversiones no solo permiten responder con mayor rapidez a emergencias, sino también reducir el impacto sanitario, social y económico de posibles pandemias. El disponer de candidatos vacunales frente a distintos patógenos con potencial epidémico/pandémico, como se describe a lo largo de este artículo, debe de ser una prioridad que nos permita poder actuar con rapidez en el caso de la incidencia de un determinado



virus en la población. Invertir en prevención es la forma más económica de actuación.

Sin embargo, persisten retos importantes que deben abordarse para lograr una preparación más eficaz. Entre ellos destacan la desigualdad en el acceso a vacunas y tratamientos, la fragilidad de algunos sistemas de salud y la proliferación de desinformación durante las crisis sanitarias. A ello se suma la creciente interacción entre humanos, animales y ecosistemas (ONE-HEALTH), que incrementa el riesgo de aparición de nuevas zoonosis, lo que refuerza la necesidad de adoptar enfoques integrados de salud pública que consideren los factores ambientales y sociales.

En conclusión, la preparación frente a futuras amenazas virales requiere un enfoque multidisciplinar, cooperativo y sostenido en el tiempo. Solo mediante la combinación de vigilancia científica, cooperación internacional, fortalecimiento de los sistemas sanitarios, inversión en I+D y una comunicación pública eficaz será posible reducir la vulnerabilidad global frente a nuevas pandemias y proteger de forma más eficaz la salud de la población mundial. No podemos obviar a los agentes infecciosos que irán surgiendo y creando grandes amenazas a la población global. Así pues, para evitar futuras amenazas debemos mantener la vigilancia y actuar rápidamente frente a agentes infecciosos con potencial epidémico/pandémico mediante el desarrollo de vacunas eficaces de control.

Los recientes brotes de enfermedad por virus del Ébola registrados en África Central durante 2026, atribuidos a la cepa Bundibugyo y responsables de más de 200 fallecimientos, así como los casos de infección por hantavirus detectados en una embarcación de recreo, evidencian la persistente vulnerabilidad de las poblaciones humanas frente a agentes patógenos emergentes y reemergentes. Estos acontecimientos subrayan la necesidad de una respuesta rápida y coordinada por parte de las autoridades sanitarias y de los sistemas de vigilancia epidemiológica con el fin de contener la propagación de enfermedades potencialmente letales. En este contexto, resulta im-

prescindible mantener un estado de alerta y fortalecer las capacidades de prevención, detección y respuesta ante futuras epidemias y pandemias, cuya aparición continúa siendo una posibilidad real en un mundo cada vez más interconectado.

Agradecimientos

Este artículo es parte de un extracto de la conferencia celebrada el 13 de marzo de 2025 en la Real Academia Nacional de Farmacia. La investigación realizada en el CNB ha sido financiada a través de proyectos de investigación otorgados por diferentes instituciones: proyectos intramurales especiales del CSIC (202120E079 y 202020E084), proyecto PID2020-114481RB-I00 del Ministerio de Ciencia e Innovación (MCIN)/Agencia Española de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033, proyecto CF01-00008 de la Fundación La Caixa, así como donaciones. Por otro lado, esta investigación ha sido también financiada por la Comisión Europea-NextGenerationEU, a través de la Plataforma de Salud Global del CSIC (PTI Salud Global). También agradecemos el apoyo económico de la Agencia Estatal de Investigación AEI/10.13039/501100011033, a través del Programa de Centros de Excelencia en I+D+i “Severo Ochoa” (SEV-2017-0712). Agradecimiento muy especial a los miembros del laboratorio de Poxvirus y Vacunas del CNB, personal científico y técnico, por su excelente trabajo realizado en el desarrollo de vacunas contra virus emergentes y reemergentes. También a nuestros colaboradores nacionales e internacionales, así como al Centro de Experimentación Animal (CISA) por las facilidades en el uso del laboratorio BSL-3. También a Manuel Tirado de la RANFE por su ayuda en la recopilación y maquetado del texto.

Agradecimiento especial a Victoria Jiménez por sus cerca de 40 años de trabajo de investigación como técnico especializado, realizado en los laboratorios del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina Downstate, SUNY (1980-1992), en Nueva York, y en el Centro Nacional de Biotecnología del CSIC (1993-hasta su jubilación en 2020).



14. REFERENCIAS

1. Piret J, Boivin G. Pandemics throughout history. *Front Microbiol.* 2021 Jan 15;11:631736.
2. Ukoaka BM, Okesanya OJ, Daniel FM, et al. Updated WHO list of emerging pathogens for a potential future pandemic: implications for public health and global preparedness. *Infez Med.* 2024 Dec 1;32(4):463-477.
3. Morens DM, Taubenberger JK. Pandemic influenza: certain uncertainties. *Rev Med Virol.* 2011;21(5):262-284.
4. Morens DM, Fauci AS. Emerging pandemic diseases: how we got to COVID-19. *Cell.* 2020 Sep 3;182(5):1077-1092.
5. Fauci AS, Folkers GK. HIV/AIDS and COVID-19: shared lessons from 2 pandemics. *Clin Infect Dis.* 2025 Jun 4;80(5):1074-1079.
6. World Health Organization. HIV/AIDS [Internet]. Geneva: WHO; 2023 [cited 2024]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>
7. World Health Organization. Hepatitis infections [Internet]. Geneva: WHO; 2024 [cited 2024]. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/09-04-2024-who-sounds-alarm-on-viral-hepatitis-infections-claiming-3500-lives-each-day>
8. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733.
9. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579(7798):270-273.
10. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579(7798):265-269.
11. Perdiguero B, Pérez P, Marcos-Villar L, et al. Highly attenuated poxvirus-based vaccines against emerging viral diseases. *J Mol Biol.* 2023 Jun 8;435(15):168173.
12. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2. *Cell.* 2020;181(2):271-280.
13. Garcia-Arriaza J, Garaigorta U, Perez P, et al. COVID-19 vaccine candidates based on modified vaccinia virus Ankara expressing the SARS-CoV-2 spike induce robust T- and B-cell immune responses and full efficacy in mice. *J Virol.* 2021 Mar 10;95(7):e02260-20.
14. Lazaro-Frias A, Perez P, Zamora C, et al. Full efficacy and long-term immunogenicity induced by the SARS-CoV-2 vaccine candidate MVA-CoV2-S in mice. *NPJ Vaccines.* 2022 Feb 9;7(1):17.
15. Perez P, Astorgano D, Albericio G, et al. Intranasal administration of a single dose of MVA-based vaccine candidates against COVID-19 induced local and systemic immune responses and protects mice from a lethal SARS-CoV-2 infection. *Front Immunol.* 2022;13:995235.
16. Boudewijns R, Perez P, Lazaro-Frias A, et al. MVA-CoV2-S vaccine candidate neutralizes distinct variants of concern and protects against SARS-CoV-2 infection in hamsters. *Front Immunol.* 2022;13:845969.
17. Mooij P, Garcia-Arriaza J, Perez P, et al. Poxvirus MVA expressing SARS-CoV-2 S protein induces robust immunity and protects rhesus macaques from SARS-CoV-2. *Front Immunol.* 2022;13:845887.
18. Villadiego J, Garcia-Arriaza J, Ramirez-Lorca R, et al. Full protection from SARS-CoV-2 brain infection and damage in susceptible transgenic mice conferred by MVA-CoV2-S vaccine candidate. *Nat Neurosci.* 2023 Feb;26(2):226-238.
19. Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature.* 2021;596(7871):276-280.
20. Cao Y, Wang J, Jian F, et al. Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Nature.* 2022;602(7898):657-663.
21. Gómez CE, Perdiguero B, Esteban M. Emerging SARS-CoV-2 variants and impact in global vaccination programs against SARS-CoV-2/COVID-19. *Vaccines (Basel).* 2021;9(3):243.
22. Perez P, Astorgano D, Albericio G, et al. MVA-based vaccine candidates expressing SARS-CoV-2 prefusion-stabilized spike proteins of the Wuhan, Beta or Omicron BA.1 variants protect transgenic K18-hACE2 mice against Omicron infection and elicit robust and broad specific humoral and cellular immune responses. *Front Immunol.* 2024;15:1420304.
23. Perez P, Lazaro-Frias A, Zamora C, et al. A single dose of an MVA vaccine expressing a prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spike protein neu-



- tralizes variants of concern and protects mice from a lethal SARS-CoV-2 infection. *Front Immunol.* 2021;12:824775.
24. Abdelnabi R, Perez P, Astorgano D, et al. Optimized vaccine candidate MVA-S(3P) fully protects against SARS-CoV-2 infection in hamsters. *Front Immunol.* 2023;14:1163159.
 25. Marcos-Villar L, Perdiguero B, López-Bravo M, et al. Heterologous mRNA/MVA delivering trimeric-RBD as effective vaccination regimen against SARS-CoV-2: COVARNA Consortium. *Emerg Microbes Infect.* 2024 Dec;13(1):2387906.
 26. Pérez P, Jiang K, González-Domínguez I, et al. Immunogenicity and efficacy of homologous and heterologous NDV and MVA SARS-CoV-2 vaccines in mice and hamsters. *NPJ Vaccines.* 2025 Nov 21;10(1):246.
 27. Pérez P, Estes G, Noriega MA, et al. Homologous MVA and heterologous DREP/MVA vaccine regimens induce robust and durable immune responses against SARS-CoV-2. *Sci Rep.* 2026 Apr 9. doi: 10.1038/s41598-026-46699-0.
 28. Marcos-Villar L, Perdiguero B, Sin L, et al. Design and preclinical validation of a novel multi-epitope patch mRNA as broad vaccine candidate against SARS-CoV-2 emerging variants. *Front Immunol.* 2026 PMID 42164511.
 29. Corbett KS, Edwards DK, Leist SR, et al. SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness. *Nature.* 2020;586(7830):567-571.
 30. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med.* 2020;383(27):2603-2615.
 31. Baden LR, El Sahly HM, Essink B, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *N Engl J Med.* 2021;384(5):403-416.
 32. Li S, Rodrigues M, Rodriguez D, et al. Priming with recombinant influenza virus followed by administration of recombinant vaccinia virus induces CD8+ T-cell-mediated protective immunity against malaria. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90(11):5214-5218.
 33. Rodrigues M, Li S, Rodriguez D, et al. Influenza and vaccinia viruses expressing malaria CD8+ T and B cell epitopes: comparison of their immunogenicity and capacity to induce protective immunity. *J Immunol.* 1994;153(10):4636-4648.
 34. Gómez CE, Nájera JL, Pérez-Jiménez E, et al. Head-to-head comparison on the immunogenicity of two HIV/AIDS vaccine candidates based on the poxvirus strains MVA and NYVAC coexpressing in a single locus the HIV-1BX08 and HIV-1 Gag-Pol-Nef proteins of clade B. *Vaccine.* 2007;25(15):2863-2885.
 35. Gómez CE, Nájera JL, Jiménez V, et al. Immunogenicity of HIV/AIDS vaccine candidates targeting HIV-1 Env/Gag-Pol-Nef antigens of clade C. *Vaccine.* 2007;25(11):1969-1992.
 36. Mooij P, Balla-Jaghjoorsingh SS, Koopman G, et al. Differential CD4+ versus CD8+ T cell responses elicited by different poxvirus-based human immunodeficiency virus type 1 vaccine candidates provide comparable efficacies in primates. *J Virol.* 2008;82(6):2975-2988.
 37. Wilks AB, Christian EC, Seaman MS, et al. Robust vaccine-elicited cellular immune responses in breast milk following systemic simian immunodeficiency virus DNA prime and live virus vector boost vaccination of lactating rhesus monkeys. *J Immunol.* 2010;185(11):7097-7106.
 38. Flynn BJ, Kastenmueller K, Wille-Reece U, et al. Prime-boost immunization with protein targeted to the dendritic cell receptor DEC205 followed by recombinant NYVAC induces robust Gag CD4+ and CD8+ T cell responses in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(17):7131-7136.
 39. García F, Bernaldo de Quirós JC, Gómez CE, et al. Safety and immunogenicity of a modified pox vector-based HIV/AIDS vaccine candidate expressing Env, Gag, Pol, Nef proteins of HIV-1 subtype B (MVA-B) in HIV-1-uninfected volunteers. *Vaccine.* 2011;29(46):8309-8316.
 40. Gómez CE, Nájera JL, Perdiguero B, et al. The HIV/AIDS vaccine candidate MVA-B administered as a single immunogen in humans triggers robust, polyfunctional and selective effector memory T cell responses to HIV-1 antigens. *J Virol.* 2011;85(21):11468-11478.
 41. Mothe B, Climent N, Plana M, et al. Safety and immunogenicity of a modified vaccinia Ankara-based HIV-1 vaccine (MVA-B) in HIV-1-infected patients alone or in combination with a drug to reactivate latent HIV-1. *J Antimicrob Chemother.* 2015 Jun;70(6):1833-1842.



42. Gómez CE, Perdiguero B, García-Arriaza J, et al. A phase I randomized therapeutic MVA-B vaccination improves the magnitude and quality of the T cell immune responses in HIV-1-infected subjects on HAART. *PLoS One*. 2015 Nov 6;10(11):e0141456.
43. Rallon NI, Mothe B, Lopez Bernaldo de Quiros JC, et al. Balance between activation and regulation of HIV-specific CD8+ T-cell response after modified vaccinia Ankara B therapeutic vaccination. *AIDS*. 2016 Feb 20;30(4):553-562.
44. Joseph S, Quinn K, Greenwood A, et al. A comparative phase I study of combination, homologous subtype-C DNA, MVA, and Env gp140 protein/adjuvant HIV vaccines in two immunization regimes. *Front Immunol*. 2017 Feb 22;8:149.
45. Pantaleo G, Janes H, Karuna S, et al. Safety and immunogenicity of a multivalent HIV vaccine comprising envelope protein with either DNA or NYVAC vectors (HVTN 096): a phase 1b, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet HIV*. 2019 Nov;6(11):e737-e749.
46. Guardo AC, Gómez CE, Díaz-Brito V, et al. Safety and vaccine-induced HIV-1 immune responses in healthy volunteers following a late MVA-B boost 4 years after the last immunization. *PLoS One*. 2017 Oct 24;12(10):e0186602.
47. Gómez CE, Perdiguero B, Cepeda MV, et al. High, broad, polyfunctional and durable T cell immune responses induced in mice by a novel hepatitis C virus (HCV) vaccine candidate based on MVA expressing the near full-length HCV genome (MVA-HCV). *J Virol*. 2013;87(13):7282-7300.
48. Marín MQ, Pérez P, Ljungberg K, et al. Potent anti-hepatitis C (HCV) T cell immune responses induced in mice vaccinated with DNA-launched RNA replicons and MVA-HCV. *J Virol*. 2019 Mar 21;93(7):e00055-19.
49. García-Arriaza J, Cepeda V, Hallengård D, et al. A novel poxvirus-based vaccine (MVA-CHIKV) is highly immunogenic and protects mice against chikungunya infection. *J Virol*. 2014 Mar;88(6):3527-3547.
50. Hallengård D, Lum FM, Kümmerer BM, et al. Prime-boost immunization strategies against chikungunya virus. *J Virol*. 2014 Nov;88(22):13333-13343.
51. Ahola T, Courderc T, Ng LF, et al. Therapeutics and vaccines against chikungunya virus. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2015 Apr;15(4):250-257.
52. Roques P, Ljungberg K, Kümmerer BM, et al. Attenuated and vectored vaccines protect non-human primates against chikungunya virus. *JCI Insight*. 2017 Mar 23;2(6):e83527.
53. Pérez P, Marín MQ, Lázaro-Frías A, et al. A vaccine based on a modified vaccinia virus Ankara vector expressing Zika virus structural proteins controls Zika virus replication in mice. *Sci Rep*. 2018 Nov 26;8(1):17385.
54. Pérez P, Martín-Acebes MA, Poderoso T, et al. The combined vaccination protocol of DNA/MVA expressing Zika virus structural proteins as efficient inducer of T and B cell immune responses. *Emerg Microbes Infect*. 2021 Dec;10(1):1441-1456.
55. Lázaro-Frías A, Gómez-Medina S, Sánchez-Sampedro L, et al. Distinct immunogenicity and efficacy of poxvirus-based vaccine candidates against Ebola virus expressing GP and VP40 proteins. *J Virol*. 2018 May 14;92(11):e00363-18.
56. Öhlund P, García-Arriaza J, Zusinaite E, et al. DNA-launched RNA replicon vaccines induce potent anti-Ebolavirus immune responses that can be further improved by a recombinant MVA boost. *Sci Rep*. 2018 Aug 20;8(1):12459.
57. Meola A, Vernuccio R, Battini L, et al. Structural basis of poxvirus fusion regulation and anti-A16/G9 antibody-mediated neutralization and protection. *Cell*. 2025 Oct 30;188(22):6266-6282.

Si desea citar nuestro artículo:
Lecciones aprendidas durante la pandemia de SARS-COV-2 y preparación de nuevas vacunas frente a amenazas epidémicas/pandémicas

Mariano Esteban, Jorge Esteban-Jiménez

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 92. nº 2 (2026) · pp. 211-226

DOI:<http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.01.05>



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Reparación del ADN y farmacorresistencia en cáncer de pulmón
DNA Repair and Drug Resistance in Lung Cancer

Pedro Medina Vico

Catedrático del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I. Universidad de Granada.
Jefe de Grupo. Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO).

email: pedro.medina@genyo.es

Trabajo ganador del Premio CINFA en el Concurso Científico RANF 2025
Recibido el 4 de noviembre 2025; aceptado el 12 de diciembre de 2025
Disponible en internet el 30 de junio de 2026

PALABRAS CLAVE

Cáncer de pulmón
Polimorfismos de
reparación del ADN
Recombinación ho-
móloga
Resistencia al trata-
miento
Medicina personali-
zada

RESUMEN

El cáncer de pulmón continúa siendo la principal causa de mortalidad por cáncer a nivel mundial, en gran medida debido a la capacidad de las células tumorales para desarrollar resistencia, tanto intrínseca como adquirida, frente a terapias que inducen daño en el ADN. En este contexto, la respuesta celular al daño genómico y, en particular, la eficiencia de los sistemas de reparación de roturas de doble cadena, emergen como determinantes clave de la sensibilidad terapéutica y de la evolución clínica de la enfermedad.

En los últimos años, el estudio de la red de reparación del ADN ha evolucionado desde el análisis de genes individuales hacia una visión integrada de la respuesta al daño genético (DNA damage response, DDR), en la que procesos como la recombinación homóloga, la unión de extremos no homólogos y la protección de la horquilla de replicación actúan de manera coordinada para mantener la estabilidad genómica. Alteraciones en estos mecanismos no solo favorecen la tumorigénesis, sino que también condicionan la respuesta a tratamientos basados en daño genotóxico, incluyendo derivados del platino, inhibidores de topoisomerasas y terapias dirigidas como los inhibidores de PARP. Estudios iniciales, incluyendo análisis de polimorfismos funcionales en genes de recombinación homóloga como XRCC3, NBS1 y BRCA2, han sugerido que la variabilidad genética en estos sistemas puede modular la acumulación de daño inducido por carcinógenos y la aparición de firmas mutacionales características, como las transversiones asociadas al tabaco en el gen TP53. En particular, variantes en NBS1 se han relacionado con una mayor carga mutacional y con alteraciones en la estabilidad cromosómica, apoyando la hipótesis de que la eficiencia de la reparación del ADN influye directamente en la evolución molecular del tumor.

Más recientemente, estos hallazgos se han integrado en el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que ha adquirido un papel central como biomarcador predictivo de respuesta a terapias dirigidas y como base para estrategias de letalidad sintética. Sin embargo, la plasticidad de los

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto



sistemas de reparación del ADN y la aparición de mecanismos adaptativos de resistencia, como la restauración funcional de la recombinación homóloga o la estabilización de la horquilla de replicación, limitan la eficacia sostenida de estas terapias.

KEYWORDS

Lung cancer
DNA repair
polymorphisms
Homologous
recombination
Treatment
resistance
Personalized
medicine

ABSTRACT

Lung cancer remains the leading cause of cancer-related mortality worldwide, largely due to the ability of tumor cells to develop both intrinsic and acquired resistance to therapies that induce DNA damage. In this context, the cellular response to genotoxic stress, particularly the efficiency of DNA double-strand break repair, has emerged as a key determinant of therapeutic response and disease progression.

In recent years, the study of DNA repair has evolved from a gene-centric perspective to a more integrated view of the DNA damage response (DDR), where pathways such as homologous recombination, non-homologous end joining, and replication fork protection act in a coordinated manner to preserve genomic stability. Disruptions in these processes not only contribute to tumorigenesis but also critically influence the response to DNA-damaging agents, including platinum-based chemotherapy, topoisomerase inhibitors, and targeted therapies such as PARP inhibitors.

Early studies, including analyses of functional polymorphisms in homologous recombination genes such as XRCC3, NBS1, and BRCA2, have suggested that genetic variability within these pathways may modulate the accumulation of carcinogen-induced DNA damage and shape characteristic mutational signatures, such as tobacco-associated transversions in the TP53 gene. In particular, variants in NBS1 have been associated with increased mutational burden and chromosomal instability, supporting the notion that DNA repair capacity directly influences tumor evolution.

More recently, these findings have been incorporated into the concept of homologous recombination deficiency (HRD), which has gained a central role as a predictive biomarker for targeted therapies and as the basis for synthetic lethality-based strategies. However, the dynamic nature of DNA repair systems and the emergence of adaptive resistance mechanisms, including restoration of homologous recombination function and replication fork stabilization, limit the long-term efficacy of these treatments.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón continúa siendo la principal causa de mortalidad por cáncer a nivel mundial, en gran medida debido a la elevada capacidad de las células tumorales para desarrollar resistencia, tanto intrínseca como adquirida, frente a terapias que inducen daño en el ADN. A pesar de los avances en cirugía, radioterapia, terapias dirigidas e inmunoterapia, la mayoría de los pacientes con enfermedad avanzada experimenta progresión, lo que pone de manifiesto la necesidad de comprender en

profundidad los mecanismos biológicos que subyacen a la farmacorresistencia. En este contexto, los sistemas de mantenimiento del genoma desempeñan un papel fundamental en la prevención de la acumulación de alteraciones genéticas y en la modulación de la respuesta a los tratamientos antitumorales (Hoeijmakers, 2001).

Una característica central de la biología del cáncer de pulmón es la acumulación progresiva de alteraciones genómicas impulsadas tanto por carcinógenos exógenos, especialmente los derivados del humo del tabaco,

como por fuentes endógenas de daño asociadas al estrés replicativo y a la inestabilidad cromosómica. En este escenario, la respuesta celular al daño en el ADN no constituye únicamente un mecanismo pasivo de mantenimiento genómico, sino un proceso dinámico que condiciona la evolución tumoral, la heterogeneidad clonal y la adaptación a presiones selectivas, incluyendo las terapias antineoplásicas (Hanahan, 2022).

En los últimos años, el estudio de la reparación del ADN ha evolucionado desde un enfoque centrado en genes individuales hacia una visión integrada de la respuesta al daño genético (DNA damage response, DDR). Esta red engloba múltiples vías coordinadas, entre ellas la recombinación homóloga (HR), la unión de extremos no homólogos (NHEJ), los puntos de control del ciclo celular y los mecanismos de protección de la horquilla de replicación, que actúan conjuntamente para preservar la estabilidad genómica. Alteraciones en estos sistemas no solo favorecen la tumorigénesis, sino que también determinan la sensibilidad o resistencia a agentes terapéuticos que inducen daño genotóxico, incluyendo los compuestos de platino, la radioterapia y diferentes estrategias dirigidas contra vulnerabilidades de reparación del ADN (Helleday et al., 2008; Lord and Ashworth, 2012). Este marco conceptual se resume en la Figura 1.

Dentro de este contexto, estudios iniciales centrados en la variabilidad genética de genes reparadores, incluyendo polimorfismos funcionales en componentes de la recombinación homóloga como XRCC3, NBS1 y BRCA2, han aportado evidencias de que la eficiencia de la reparación del ADN puede modular la acumulación de daño inducido por carcinógenos y contribuir a la configuración del paisaje mutacional tumoral (Medina et al., 2003). Estos trabajos sugieren que alteraciones sutiles en la capacidad de reparación pueden influir tanto en la susceptibilidad al cáncer como en la respuesta a tratamientos basados en daño genómico.

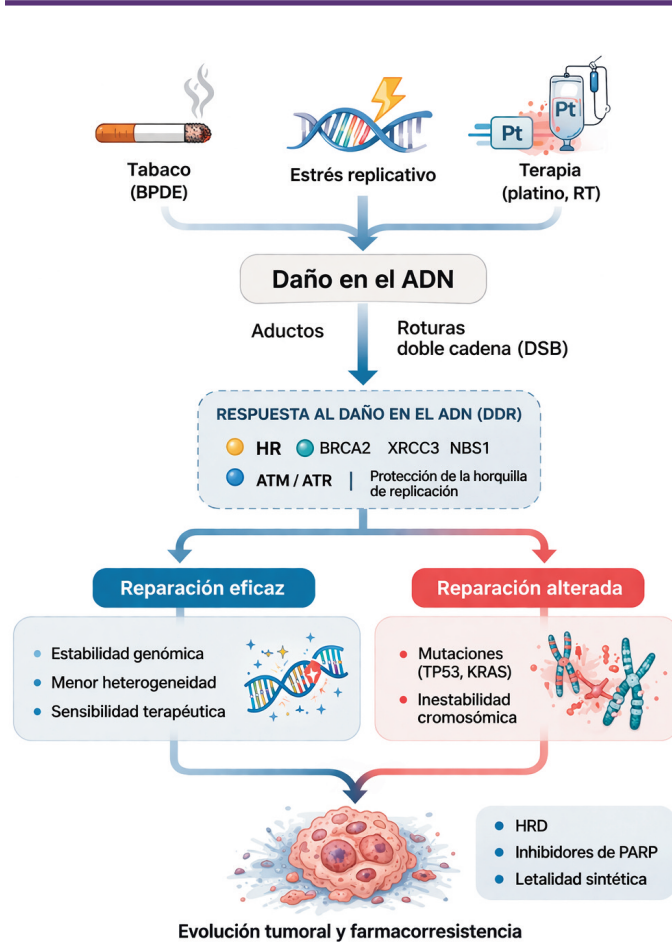


Figura 1. Modelo conceptual del papel de la respuesta al daño en el ADN (DDR) en la evolución tumoral y la resistencia terapéutica en cáncer de pulmón. Las células tumorales están expuestas a múltiples fuentes de daño genómico, incluyendo carcinógenos del tabaco, estrés replicativo y tratamientos oncológicos que inducen lesiones en el ADN. La activación de la DDR, que integra vías como la recombinación homóloga (HR), la unión de extremos no homólogos (NHEJ) y la protección de la horquilla de replicación, determina el destino celular. Una reparación eficaz favorece la estabilidad genómica y la sensibilidad terapéutica, mientras que una reparación alterada conduce a la acumulación de mutaciones, inestabilidad cromosómica y desarrollo de resistencia. Este equilibrio dinámico sustenta conceptos clínicos como la deficiencia en recombinación homóloga (HRD) y la vulnerabilidad a terapias basadas en letalidad sintética, incluyendo los inhibidores de PARP.

Más recientemente, estos hallazgos se han integrado en el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que ha adquirido un papel central como biomarcador predictivo de respuesta terapéutica y como base biológica de estrategias de letalidad sintética. Sin embargo, la plasticidad de los sistemas de reparación del ADN y la aparición de mecanismos adaptativos de resistencia, como la restauración funcional de la recombinación homóloga o la estabilización de la horquilla de replicación, limitan la eficacia sostenida de estas aproximaciones terapéuticas (Lord and Ashworth, 2012).

2. CÁNCER DE PULMÓN COMO ENFERMEDAD DE INESTABILIDAD GENÓMICA Y CONTEXTO TERAPÉUTICO

El cáncer de pulmón constituye un grupo heterogéneo de neoplasias que, desde el punto de vista clínico y biológico, se clasifican principalmente en dos grandes entidades: el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), que representa aproximadamente el 80-85% de los casos, y el cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC), caracterizado por una mayor agresividad biológica y una elevada

tasa de proliferación (Travis et al., 2015; Herbst et al., 2018). (Figura 2).

El NSCLC engloba distintos subtipos histológicos, principalmente adenocarcinoma, carcinoma escamoso y carcinoma de células grandes, que presentan diferencias en su origen celular, perfil molecular y respuesta terapéutica. En las últimas décadas, la caracterización genética de estos tumores ha permitido identificar alteraciones oncogénicas recurrentes, como mutaciones en *EGFR*, reordenamientos en *ALK* o alteraciones en *KRAS*, lo que ha impulsado el desarrollo de terapias dirigidas. Sin embargo, a pesar de estos avances, la aparición de resistencia terapéutica sigue siendo prácticamente inevitable, reflejando la capacidad adaptativa de las células tumorales (Herbst et al., 2018).

Por su parte, el SCLC se caracteriza por una elevada carga mutacional, una marcada inestabilidad genómica y una fuerte asociación con el consumo de tabaco. A nivel molecular, estos tumores presentan con frecuencia alteraciones en *TP53* y *RB1*, así como una alta dependencia de mecanismos de respuesta al daño en el ADN, lo que los convierte en un modelo paradigmático de tumor impulsado por estrés genotóxico (George et al., 2015).

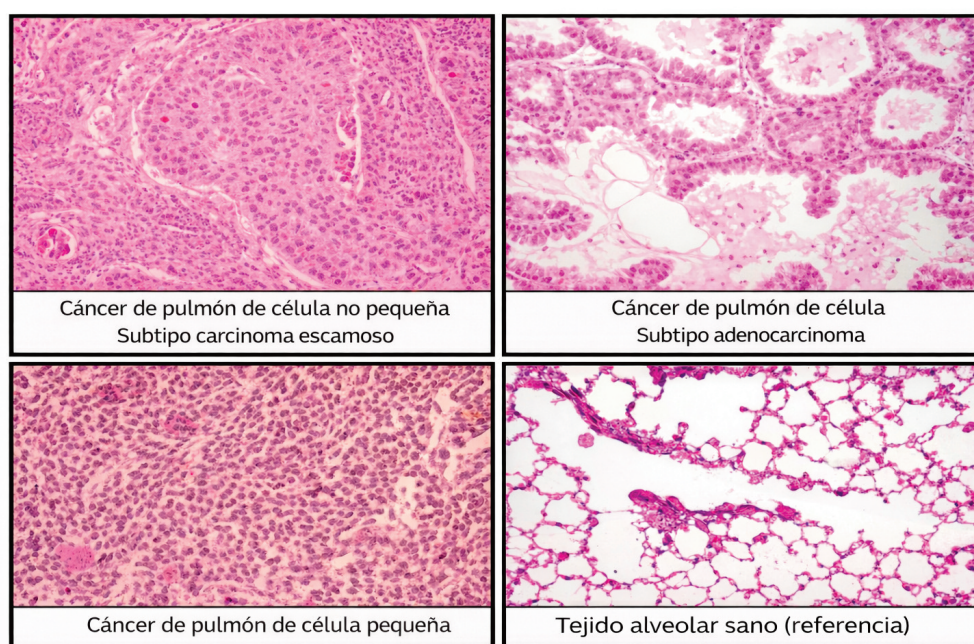


Figura2. Subtipos histológicos del cáncer de pulmón



A pesar de sus diferencias, ambos subtipos comparten una característica fundamental: la exposición continua a presiones selectivas, tanto ambientales como terapéuticas, que favorecen la selección de clones tumorales con mayor capacidad de tolerar o reparar el daño en el ADN. En este contexto, los tratamientos estándar, especialmente aquellos basados en agentes que inducen roturas de doble cadena, como los compuestos de platino o la radioterapia, actúan como potentes fuerzas evolutivas que modelan la composición clonal del tumor.

Así, la interacción entre daño genómico, mecanismos de reparación del ADN y presión terapéutica define un proceso dinámico de evolución tumoral. La capacidad de las células cancerosas para modular la actividad de las vías de reparación, incluyendo la recombinación homóloga y la unión de extremos no homólogos, no solo condiciona la eficacia inicial de los tratamientos, sino también la aparición de resistencia adquirida y la progresión de la enfermedad (Lord and Ashworth, 2012).

3. DAÑO GENÓMICO INDUCIDO POR TABACO Y FIRMAS MUTACIONALES

El humo del tabaco constituye la principal fuente de exposición a carcinógenos en el cáncer de pulmón, conteniendo miles de compuestos químicos, entre los cuales destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y las nitrosaminas específicas del tabaco. Estos compuestos, tras su activación metabólica mediada por enzimas del citocromo P450, generan metabolitos altamente reactivos capaces de formar aductos covalentes con el ADN, interfiriendo con la correcta replicación y estabilidad del material genético (Hecht, 2003).

La formación de estos aductos representa uno de los mecanismos iniciales clave en la carcinogénesis inducida por el tabaco. En condiciones normales, estos daños son reconocidos y eliminados por los sistemas de reparación del ADN. Sin embargo, cuando la

reparación es ineficiente o incompleta, los aductos persisten y pueden dar lugar a errores durante la replicación, generando mutaciones puntuales características. Entre ellas, las transversiones G→T constituyen una firma mutacional distintiva del daño inducido por carcinógenos del tabaco, particularmente en genes supresores tumorales como *TP53* (Pfeifer et al., 2002; Pfeifer and Hainaut, 2003).

Este patrón mutacional refleja la acción directa de compuestos como el benzopireno diol-epóxido sobre residuos de guanina, generando lesiones que, si no son eliminadas por los sistemas de reparación del ADN, se traducen en sustituciones de bases específicas. Como se muestra en la Figura 3, existe una relación directa entre la formación de aductos en el ADN, la aparición de transversiones características y la localización de hotspots mutacionales en el gen *TP53*, lo que evidencia la conexión entre daño químico directo y selección de mutaciones funcionalmente relevantes.

En este contexto, los análisis genómicos han permitido integrar estos patrones dentro del concepto de firmas mutacionales, que reflejan tanto la historia de exposición a carcinógenos como la actividad de los sistemas de reparación del ADN. En el cáncer de pulmón asociado al tabaco, la denominada “Signature 4” se caracteriza por un predominio de transversiones C>A y se asocia de manera directa con la exposición a carcinógenos del humo del tabaco (Alexandrov et al., 2013; Alexandrov et al., 2016). La comparación entre tumores de fumadores y no fumadores revela diferencias claras en la distribución de tipos de mutaciones, lo que subraya el impacto de los factores ambientales en la configuración del paisaje mutacional tumoral (Figura 3).

Además de inducir mutaciones puntuales, los carcinógenos del tabaco pueden generar formas más complejas de daño genómico, incluyendo roturas de doble cadena, consideradas una de las lesiones más críticas para la integridad del genoma. La incapacidad para reparar adecuadamente estas lesiones contri-

buye a la inestabilidad cromosómica, favoreciendo la acumulación de alteraciones estructurales y promoviendo la progresión tumoral.

En este marco, la eficiencia de los sistemas de reparación del ADN emerge como un factor determinante en la acumulación de daño genómico inducido por el tabaco. Estudios iniciales centrados en polimorfismos funcionales en genes implicados en la recombinación homóloga, como *XRCC3*, *NBS1* y *BRCA2*, han demostrado que la variabilidad genética en estos sistemas puede modular la aparición de mutaciones características, incluyendo las transversiones en *TP53* asociadas al tabaquismo (Medina et al., 2003). Estos hallazgos sugieren que diferencias interindividuales en la capacidad de reparación del ADN no solo influyen en la susceptibilidad al cáncer, sino también en

la configuración del paisaje mutacional y en la respuesta a terapias basadas en daño genómico.

4. VÍAS DE RESPUESTA AL DAÑO EN EL ADN (DNA DAMAGE RESPONSE, DDR)

La respuesta al daño en el ADN (DNA damage response, DDR) constituye una red altamente integrada de mecanismos celulares encargados de detectar, señalar y reparar las lesiones genómicas, así como de coordinar la progresión del ciclo celular en respuesta a dicho daño. Esta red incluye múltiples vías de reparación del ADN, sistemas de control del ciclo celular y mecanismos de tolerancia al daño que actúan de manera coordinada para preservar la estabilidad genómica (Hoeijmakers, 2001; Helleday et al., 2008).

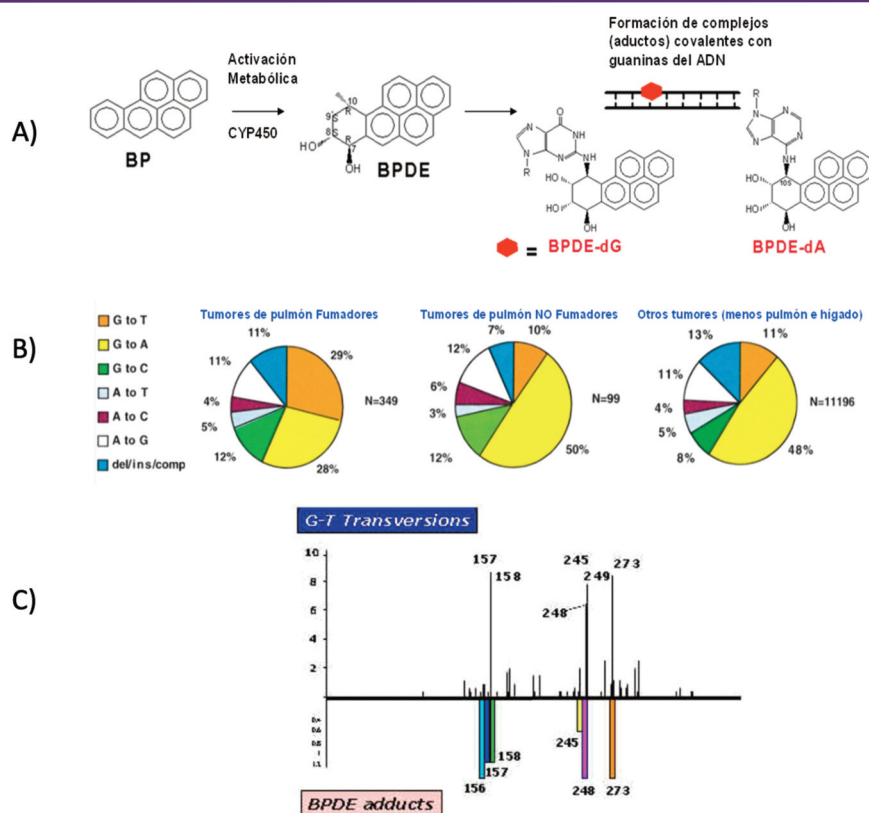


Figura 3. Daño inducido por carcinógenos del tabaco y consecuencias mutacionales en cáncer de pulmón. (A) Activación metabólica de hidrocarburos aromáticos policíclicos como el benzopireno y formación de aductos covalentes con el ADN. (B) Distribución de tipos de mutaciones en tumores de pulmón de fumadores y no fumadores, evidenciando el predominio de transversiones asociadas al tabaco. (C) Distribución de transversiones en el gen *TP53* y su correspondencia con regiones preferenciales de formación de aductos, mostrando la relación entre daño químico directo y hotspots mutacionales.

Entre las distintas formas de daño genómico, las roturas de doble cadena representan una de las lesiones más críticas, debido a su potencial para generar inestabilidad cromosómica y alteraciones estructurales del genoma. Para su reparación, las células disponen principalmente de dos mecanismos: la recombinación homóloga y la unión de extremos no homólogos, que difieren tanto en su fidelidad como en su regulación (Hoeijmakers, 2001).

La recombinación homóloga es un proceso de alta fidelidad que utiliza una secuencia homóloga, generalmente la cromátida hermana, como molde para reparar la lesión de manera precisa. Este mecanismo implica una serie de eventos coordinados que incluyen la detección del daño, el procesamiento de los extremos del ADN y la formación de complejos nucleoproteicos que permiten la búsqueda de homología y la síntesis de ADN (Figura 4). A nivel molecular, este proceso depende de proteínas clave como BRCA1, BRCA2, RAD51 y sus parálogos, incluyendo XRCC3, así como del complejo MRN, que actúa en las fases iniciales del reconocimiento del daño.

Por el contrario, la unión de extremos no homólogos es un mecanismo más rápido pero propenso al error, que no requiere una secuencia homóloga y que puede introducir pequeñas inserciones o deleciones en los puntos de unión. Este sistema es activo a lo largo de todo el ciclo celular y constituye una vía fundamental en células no proliferativas, aunque su uso reiterado puede contribuir a la inestabilidad genómica.

La elección entre estas vías está regulada por factores del ciclo celular y por la señalización mediada por quinasas como ATM y ATR, que actúan como nodos centrales de la DDR. Estas proteínas coordinan la activación de puntos de control del ciclo celular, la reparación del ADN y, en casos de daño irreparable, la activación de programas de muerte celular (Lord and Ashworth, 2012).

Además, mecanismos como la protección de la horquilla de replicación han emergido como elementos clave en la respuesta al estrés genotóxico, especialmente en células tumora-

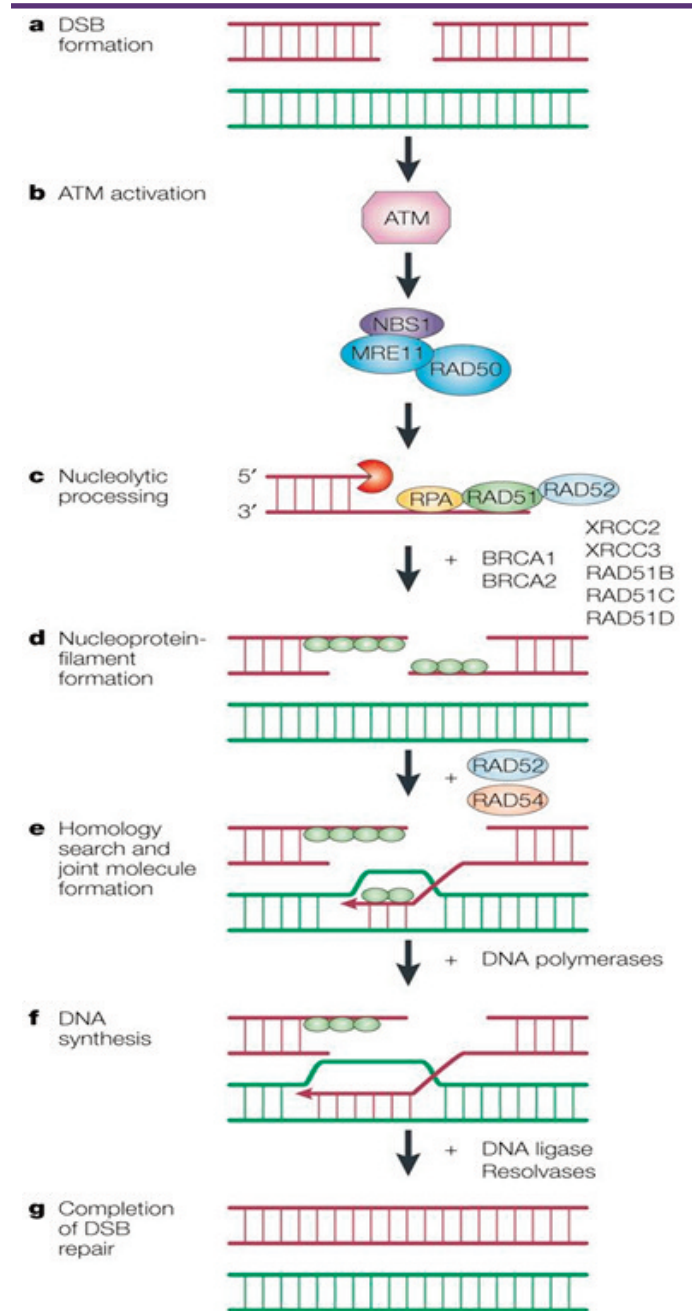


Figura 4. Reparación de roturas de doble cadena mediante recombinación homóloga (HR). (A) Generación de una rotura de doble cadena en el ADN. (B) Activación de la respuesta al daño mediante ATM y reclutamiento del complejo MRN (MRE11-RAD50-NBS1). (C) Procesamiento nucleolítico de los extremos del ADN y generación de extremos 3' monocatenarios. (D) Formación del filamento nucleoproteico mediado por RAD51 y proteínas asociadas, incluyendo BRCA1, BRCA2 y parálogos como XRCC3. (E) Búsqueda de homología e invasión de cadena en la cromátida hermana. (F) Síntesis de ADN utilizando la secuencia homóloga como molde. (G) Resolución de la estructura intermedia y finalización de la reparación (van Gent, et al. 2001).



les con alta proliferación. La desregulación de estos procesos contribuye a la acumulación de daño en el ADN y favorece la evolución tumoral.

En este contexto, las alteraciones en la DDR no solo participan en la iniciación del cáncer, sino que también determinan la respuesta a terapias basadas en daño genómico. Defectos en la recombinación homóloga generan vulnerabilidades específicas que pueden ser explotadas mediante estrategias de letalidad sintética, como el uso de inhibidores de PARP (Helleday et al., 2008; Lord and Ashworth, 2012).

5. DE POLIMORFISMOS EN GENES DE REPARACIÓN A DEFICIENCIA EN RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA (HRD)

Los estudios iniciales sobre la variabilidad genética en genes implicados en la reparación del ADN se centraron en el análisis de polimorfismos funcionales en componentes de la recombinación homóloga, como *XRCC3*, *NBS1* y *BRCA2*. Estas variantes fueron inicialmente investigadas como posibles determinantes de susceptibilidad tumoral y moduladores de la respuesta celular al daño genómico.

En este contexto, trabajos pioneros demostraron que determinadas variantes genéticas podían influir en la acumulación de daño inducido por carcinógenos y en la aparición de patrones mutacionales específicos. En particular, el análisis de polimorfismos en genes de recombinación homóloga en pacientes con cáncer de pulmón reveló una asociación significativa entre la variante *NBS1-185Gln* y la presencia de mutaciones en *TP53*, especialmente transversiones características del daño inducido por el tabaco (Medina et al., 2003). Estos hallazgos aportaron evidencia temprana de que la eficiencia de los sistemas de reparación del ADN puede modular tanto la estabilidad genómica como la naturaleza del paisaje mutacional tumoral.

Sin embargo, los enfoques basados en genes individuales resultaron insuficientes para capturar la complejidad funcional de la respuesta al daño en el ADN (DDR). En los últimos años, este paradigma ha evolucionado hacia el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que integra alteraciones en múltiples componentes de la vía en un estado funcional común (Figura 5).

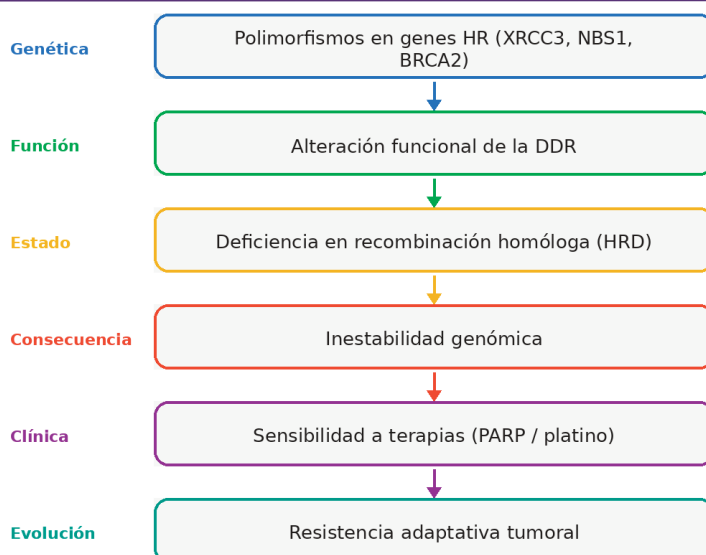


Figura 5. Transición conceptual desde polimorfismos en genes de reparación del ADN hacia un estado funcional de deficiencia en recombinación homóloga (HRD). Los polimorfismos en genes clave de la recombinación homóloga pueden generar alteraciones funcionales en la respuesta al daño en el ADN (DDR), que convergen en un estado de HRD. Este estado se asocia con inestabilidad genómica, condiciona la sensibilidad a terapias basadas en daño en el ADN y favorece la aparición de mecanismos de resistencia adaptativa.



La HRD se caracteriza por una incapacidad de las células tumorales para reparar de manera eficiente las roturas de doble cadena mediante recombinación homóloga, lo que conduce a la acumulación de alteraciones genómicas específicas, incluyendo inestabilidad cromosómica y firmas mutacionales características. Es importante destacar que la HRD no se limita a mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2*, sino que puede surgir como consecuencia de alteraciones en diversos genes o de mecanismos regulatorios que afectan a la funcionalidad global de la vía.

Desde el punto de vista clínico, la HRD ha adquirido un papel central como biomarcador predictivo de respuesta a terapias basadas en daño en el ADN. La incapacidad para reparar adecuadamente estas lesiones genera una dependencia de vías alternativas de reparación, lo que puede ser explotado mediante estrategias de letalidad sintética, como el uso de inhibidores de PARP (Helleday et al., 2008; Lord and Ashworth, 2012).

No obstante, esta vulnerabilidad no es estática. Las células tumorales pueden desarrollar mecanismos de resistencia mediante la restauración parcial de la recombinación homóloga, mutaciones reversoras o la estabilización de la horquilla de replicación. Estos procesos reflejan la plasticidad de la DDR y su papel central en la adaptación tumoral frente a la presión terapéutica.

En este contexto, los estudios iniciales basados en polimorfismos, incluyendo los realizados en genes como *NBS1*, *XRCC3* y *BRCA2*, pueden reinterpretarse como aproximaciones tempranas a la identificación de estados funcionales de deficiencia en la reparación del ADN. Así, la variabilidad genética en estos genes no solo influye en la susceptibilidad tumoral, sino también en la respuesta terapéutica y en la evolución de la enfermedad.

6. REPARACIÓN DEL ADN COMO VULNERABILIDAD TERAPÉUTICA EN CÁNCER DE PULMÓN

La dependencia de las células tumorales de mecanismos específicos de reparación del ADN constituye una vulnerabilidad terapéutica clave que ha sido ampliamente explotada en oncología en los últimos años. En el cáncer de pulmón, caracterizado por una elevada carga mutacional y exposición a daño genómico, las alteraciones en la respuesta al daño en el ADN (DDR) no solo contribuyen a la carcinogénesis, sino que también generan oportunidades terapéuticas basadas en la explotación de estas deficiencias.

Uno de los ejemplos más paradigmáticos es el uso de compuestos de platino, como cisplatino o carboplatino, que inducen enlaces cruzados en el ADN y generan roturas de doble cadena durante la replicación. La eficacia de estos tratamientos depende en gran medida de la capacidad de las células tumorales para reparar dicho daño mediante recombinación homóloga. En este contexto, los tumores con deficiencia en recombinación homóloga (HRD) presentan una mayor sensibilidad a estos agentes, lo que ha sido ampliamente demostrado en diferentes tipos tumorales, incluyendo el cáncer de pulmón (Helleday et al., 2008; O'Connor, 2015).

El desarrollo de inhibidores de PARP (poly ADP-ribose polymerase) ha supuesto un avance significativo en la explotación terapéutica de la DDR. PARP1 desempeña un papel fundamental en la reparación de roturas de cadena simple, y su inhibición conduce a la acumulación de lesiones que, durante la replicación, se convierten en roturas de doble cadena. En células con una recombinación homóloga funcional, estas lesiones pueden ser reparadas; sin embargo, en células con HRD, la incapacidad para resolver este daño conduce a la muerte celular, un fenómeno conocido como letalidad sintética (Farmer et al., 2005; Lord and Ashworth, 2017).



Además de PARP, otras dianas de la DDR han emergido como estrategias terapéuticas prometedoras. Entre ellas destacan las quinasas ATR y CHK1, que desempeñan un papel central en la respuesta al estrés replicativo. La inhibición de estas proteínas puede potenciar el daño en el ADN y aumentar la eficacia de tratamientos citotóxicos, especialmente en tumores con alta proliferación y alteraciones en los puntos de control del ciclo celular (Lecona and Fernández-Capetillo, 2018).

No obstante, la eficacia de estas estrategias está condicionada por la plasticidad de los sistemas de reparación del ADN. Las células tumorales pueden desarrollar múltiples mecanismos de resistencia, incluyendo la restauración parcial de la recombinación homóloga mediante mutaciones reversoras en genes como *BRCA1* o *BRCA2*, la pérdida de factores que regulan la elección de la vía de reparación

o la estabilización de la horquilla de replicación (Lord and Ashworth, 2017). Estos mecanismos limitan la eficacia a largo plazo de las terapias dirigidas a la DDR y subrayan la necesidad de estrategias combinadas.

En este contexto, la integración de biomarcadores funcionales, como el estado HRD o las firmas mutacionales, resulta esencial para optimizar la selección de pacientes y mejorar la eficacia terapéutica. Como se ilustra en la Figura 6, la interacción entre deficiencias en la reparación del ADN, tratamiento y adaptación tumoral define un proceso dinámico que condiciona tanto la respuesta inicial como la aparición de resistencia.

7. MECANISMOS DE RESISTENCIA A TERAPIAS DIRIGIDAS A LA DDR

A pesar del éxito inicial de las terapias dirigidas a la respuesta al daño en el ADN (DDR), la aparición de resistencia constituye una limitación significativa para su eficacia a largo plazo. Los tumores presentan una notable capacidad de adaptación frente a la presión terapéutica, lo que conduce a la reprogramación de los mecanismos de reparación del ADN y a la restauración de la viabilidad celular.

Uno de los mecanismos más relevantes es la restauración funcional de la recombinación homóloga. En tumores con alteraciones en genes como *BRCA1* o *BRCA2*, se han descrito mutaciones reversoras que permiten recuperar parcialmente la actividad de estas proteínas, reduciendo la sensibilidad a inhibidores de PARP y a compuestos de platino (Lord and Ashworth, 2017). De forma similar, la pérdida de factores reguladores de la elección de la vía de reparación puede favorecer el uso de recombinación homóloga en lugar de mecanismos alternativos más propensos al error.

Otro mecanismo clave es la estabilización de la horquilla de replicación. Las células tumorales pueden adquirir la capacidad de proteger las estructuras replicativas frente al colapso inducido por estrés genotóxico, evitando así la generación de roturas de doble cadena y reduciendo la dependencia de la

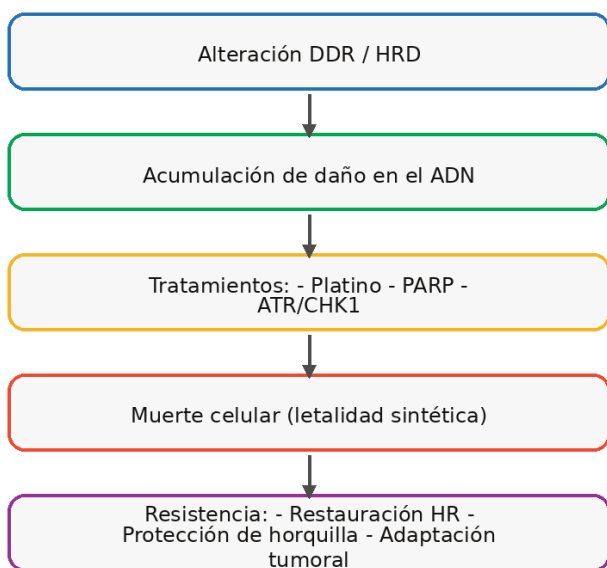


Figura 6. Explotación terapéutica de la deficiencia en reparación del ADN y desarrollo de resistencia. Las alteraciones en la respuesta al daño en el ADN generan vulnerabilidades que pueden ser explotadas mediante tratamientos como compuestos de platino, inhibidores de PARP o inhibidores de ATR/CHK1. En tumores con deficiencia en recombinación homóloga, estas estrategias inducen letalidad sintética. Sin embargo, la plasticidad tumoral permite la aparición de mecanismos de resistencia que limitan la eficacia terapéutica.



recombinación homóloga (Lecona and Fernández-Capetillo, 2018). Este proceso representa una vía alternativa de resistencia que no implica necesariamente la restauración directa de la HR.

Además, la activación de vías compensatorias de reparación del ADN, así como cambios en la regulación del ciclo celular, pueden contribuir a la tolerancia al daño genómico. La sobreexpresión de proteínas implicadas en la DDR o la alteración de puntos de control del ciclo celular permiten a las células tumorales sobrevivir en condiciones de daño persistente.

8. IMPLICACIONES CLÍNICAS Y MEDICINA PERSONALIZADA

La creciente comprensión de la DDR y de la deficiencia en recombinación homóloga (HRD) ha tenido un impacto significativo en el desarrollo de estrategias de medicina personalizada en oncología. La identificación de biomarcadores funcionales que reflejen el estado de los sistemas de reparación del ADN resulta clave para optimizar la selección de pacientes y mejorar la eficacia de los tratamientos.

En este contexto, el estado HRD ha emergido como un biomarcador predictivo de respuesta a terapias basadas en daño genómico, incluyendo compuestos de platino e inhibidores de PARP. Sin embargo, su evaluación presenta desafíos importantes, ya que la HRD no depende exclusivamente de mutaciones en genes específicos, sino de la funcionalidad global de la vía de recombinación homóloga.

El análisis de firmas mutacionales, patrones de inestabilidad genómica y alteraciones en múltiples genes de la DDR está siendo incorporado progresivamente en la práctica clínica para una caracterización más precisa de los tumores. En el cáncer de pulmón, donde la heterogeneidad molecular es elevada, este enfoque integrado resulta especialmente relevante.

Asimismo, la integración de datos genómicos, transcriptómicos y funcionales permitirá

en el futuro una mejor estratificación de los pacientes y la identificación de combinaciones terapéuticas más eficaces. En este sentido, los estudios iniciales basados en polimorfismos en genes de reparación del ADN pueden considerarse precursores de las actuales estrategias de caracterización molecular.

No obstante, la implementación clínica de estos enfoques requiere la estandarización de métodos de análisis, la validación de biomarcadores y la integración de estos datos en la toma de decisiones clínicas.

9. CONCLUSIONES

El cáncer de pulmón representa un modelo paradigmático de tumor caracterizado por una elevada inestabilidad genómica y una fuerte dependencia de los sistemas de reparación del ADN. La interacción entre exposición a carcinógenos, generación de daño genómico y eficiencia de la respuesta al daño en el ADN (DDR) define tanto la evolución tumoral como la respuesta a los tratamientos.

Los estudios iniciales sobre polimorfismos en genes de recombinación homóloga, incluyendo *XRCC3*, *NBS1* y *BRCA2*, proporcionaron evidencias tempranas del papel de la variabilidad genética en la modulación de la respuesta al daño en el ADN y en la configuración del paisaje mutacional tumoral. Estos hallazgos han evolucionado hacia el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que integra alteraciones funcionales de la DDR en un marco conceptual común con importantes implicaciones clínicas.

La explotación terapéutica de estas vulnerabilidades, mediante el uso de compuestos de platino, inhibidores de PARP y otras estrategias dirigidas a la DDR, ha abierto nuevas oportunidades en el tratamiento del cáncer de pulmón. Sin embargo, la plasticidad tumoral y la aparición de mecanismos de resistencia representan desafíos significativos que requieren un enfoque integrado y dinámico.

En este contexto, el desarrollo de biomarcadores funcionales y la implementación de



estrategias de medicina personalizada serán esenciales para optimizar la eficacia terapéutica y mejorar el pronóstico de los pacientes. La comprensión profunda de los mecanismos de reparación del ADN y su interacción con la farmacorresistencia constituye, por tanto, un elemento clave en el avance hacia una oncología de precisión.

10. REFERENCIAS

1. Ahrendt SA, Decker PA, Alawi EA, Zhu YR, Sánchez-Céspedes M, Yang SC, Haasler GB, Kajdacsy-Balla A, Demeure MJ, Sidransky D. Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the K-ras gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer*. 2001;92(6):1525-1530.
2. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SAJR, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013;500:415-421.
3. Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ, Huang MN, Ng AWT, Boot A, et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature*. 2020;578:94-101.
4. Araujo FD, Pierce AJ, Stark JM, Jasin M. Variant XRCC3 implicated in cancer is functional in homology-directed repair of double-strand breaks. *Oncogene*. 2002;21(26):4176-4180.
5. Carney JP, Maser RS, Olivares H, Davis EM, Le Beau M, Yates JR 3rd, et al. The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response. *Cell*. 1998;93(3):477-486.
6. David-Beabes GL, Lunn RM, London SJ. No association between the XPD (Lys751Gln) polymorphism or the XRCC3 (Thr241Met) polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001;10(8):911-912.
7. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science*. 1996;274(5286):430-432.
8. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt ANJ, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*. 2005;434:917-921.
9. Feng Z, Hu W, Chen JX, Pao A, Li H, Rom W, Hung MC, Tang MS. Preferential DNA damage and poor repair determine ras gene mutational hotspot in human cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(20):1527-1536.
10. Franceschi S, Naett C. Trends in smoking in Europe. *Eur J Cancer Prev*. 1995;4(4):271-284.
11. Goode EL, Dunning AM, Kuschel B, Healey CS, Day NE, Ponder BA, Easton DF, Pharoah PP. Effect of germ-line genetic variation on breast cancer survival in a population-based study. *Cancer Res*. 2002;62(11):3052-3057.
12. Graham H. Smoking prevalence among women in the European community 1950-1990. *Soc Sci Med*. 1996;43(2):243-254.
13. Guengerich FP. Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chem Res Toxicol*. 2001;14(6):611-650.
14. Hainaut P, Pfeifer GP. Patterns of p53 G T transversions in lung cancers reflect the primary mutagenic signature of DNA damage by tobacco smoke. *Carcinogenesis*. 2001;22(3):367-374.
15. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. 2022;12(1):31-46.
16. Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nat Rev Cancer*. 2003;3:733-744.
17. Helleday T, Petermann E, Lundin C, Hodgson B, Sharma RA. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(3):193-204.
18. Hoeijmakers JHJ. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature*. 2001;411(6835):366-374.
19. Kuschel B, Auranen A, McBride S, Novik KL, Antoniou A, Lipscombe JM, et al. Variants in DNA double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility. *Hum Mol Genet*. 2002;11(12):1399-1407.
20. Lecona E, Fernández-Capetillo O. Targeting ATR in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2018;18:586-595.
21. Levi F. Cancer prevention: epidemiology and perspectives. *Eur J Cancer*. 1999;35(7):1046-1058.
22. Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature*. 2012;481(7381):287-294.
23. Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: Synthetic lethality in the clinic. *Science*. 2017;355(6330):1152-1158.
24. Matsuura S, Tauchi H, Nakamura A, Kondo N, Sa-



- kamoto S, Endo S, et al. Positional cloning of the gene for Nijmegen breakage syndrome. *Nat Genet.* 1998;19(2):179-181.
25. Matullo G, Palli D, Peluso M, Guarrera S, Carturan S, Celentano E, et al. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking and DNA adducts in healthy subjects. *Carcinogenesis.* 2001;22(9):1437-1445.
 26. Medina PP, Ahrendt SA, Pollán M, Fernández P, Sidransky D, Sánchez-Céspedes M. Screening of homologous recombination gene polymorphisms in lung cancer patients reveals an association of the NBS1-185Gln variant and p53 gene mutations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12(8):699-704.
 27. O'Connor MJ. Targeting the DNA damage response in cancer. *Mol Cell.* 2015;60(4):547-560.
 28. Pfeifer GP, Denissenko MF, Olivier M, Tretyakova N, Hecht SS, Hainaut P. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene.* 2002;21:7435-7451.
 29. Pfeifer GP, Hainaut P. On the origin of G T transversions in lung cancer. *Mutat Res.* 2003;526:39-43.
 30. Sánchez-Céspedes M, Ahrendt SA, Piantadosi S, Rosell R, Monzo M, Wu L, et al. Chromosomal alterations in lung adenocarcinoma from smokers and nonsmokers. *Cancer Res.* 2001;61(4):1309-1313.
 31. Sasco AJ, Secretan MB, Straif K. Tobacco smoking and cancer: a brief review of recent epidemiological evidence. *Lung Cancer.* 2004;45 Suppl 2:S3-S9.
 32. Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y, Vanagaite L, et al. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science.* 1995;268(5218):1749-1753.
 33. Stewart GS, Maser RS, Stankovic T, Bressan DA, Kaplan MI, Jaspers NG, et al. The DNA double-strand break repair gene hMRE11 is mutated in ataxia-telangiectasia-like disorder. *Cell.* 1999;99(6):577-587.
 34. Tauchi H, Matsuura S, Kobayashi J, Sakamoto S, Komatsu K. Nijmegen breakage syndrome gene, NBS1, and genome stability. *Oncogene.* 2002;21(58):8967-8978.
 35. van Gent DC, Hoeijmakers JH, Kanaar R. Chromosomal stability and the DNA double-strand break connection. *Nat Rev Genet.* 2001;2(3):196-206.
 36. Wei Q, Gu J, Cheng L, Bondy ML, Jiang H, Hong WK, Spitz MR. Benzo[a]pyrene diol epoxide-induced chromosomal aberrations and lung cancer risk. *Cancer Res.* 1996;56(17):3975-3979.
 37. Winsey SL, Haldar NA, Marsh HP, Bunce M, Marshall SE, Harris AL, et al. XRCC3 variant and melanoma susceptibility. *Cancer Res.* 2000;60(20):5612-5616.
 38. IARC Working Group. Tobacco smoke and involuntary smoking. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.* 2004;83:1-1438.

Si desea citar nuestro artículo:
**Reparación del ADN y farmacorresistencia en
 cáncer de pulmón**

Pedro Medina Vico

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 92. nº 2 (2026) · pp. 227-239

DOI:<http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.01.06>



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Reparación del ADN y farmacorresistencia en cáncer de pulmón
DNA Repair and Drug Resistance in Lung Cancer

Pedro Medina Vico

Catedrático del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I. Universidad de Granada.

Jefe de Grupo. Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO).

email: pedro.medina@genyo.es

Trabajo ganador del Premio CINFA en el Concurso Científico RANFE 2025

Recibido el 4 de noviembre 2025; aceptado el 12 de diciembre de 2025

Disponible en internet el 30 de junio de 2026

PALABRAS CLAVECáncer de pulmón
Polimorfismos de
reparación del ADN
Recombinación ho-
móloga
Resistencia al trata-
miento
Medicina personali-
zada**RESUMEN**

El cáncer de pulmón continúa siendo la principal causa de mortalidad por cáncer a nivel mundial, en gran medida debido a la capacidad de las células tumorales para desarrollar resistencia, tanto intrínseca como adquirida, frente a terapias que inducen daño en el ADN. En este contexto, la respuesta celular al daño genómico y, en particular, la eficiencia de los sistemas de reparación de roturas de doble cadena, emergen como determinantes clave de la sensibilidad terapéutica y de la evolución clínica de la enfermedad.

En los últimos años, el estudio de la red de reparación del ADN ha evolucionado desde el análisis de genes individuales hacia una visión integrada de la respuesta al daño genético (DNA damage response, DDR), en la que procesos como la recombinación homóloga, la unión de extremos no homólogos y la protección de la horquilla de replicación actúan de manera coordinada para mantener la estabilidad genómica. Alteraciones en estos mecanismos no solo favorecen la tumorigénesis, sino que también condicionan la respuesta a tratamientos basados en daño genotóxico, incluyendo derivados del platino, inhibidores de topoisomerasas y terapias dirigidas como los inhibidores de PARP. Estudios iniciales, incluyendo análisis de polimorfismos funcionales en genes de recombinación homóloga como XRCC3, NBS1 y BRCA2, han sugerido que la variabilidad genética en estos sistemas puede modular la acumulación de daño inducido por carcinógenos y la aparición de firmas mutacionales características, como las transversiones asociadas al tabaco en el gen TP53. En particular, variantes en NBS1 se han relacionado con una mayor carga mutacional y con alteraciones en la estabilidad cromosómica, apoyando la hipótesis de que la eficiencia de la reparación del ADN influye directamente en la evolución molecular del tumor.

Más recientemente, estos hallazgos se han integrado en el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que ha adquirido un papel central como biomarcador predictivo de respuesta a terapias dirigidas y como base para estrategias de letalidad sintética. Sin embargo, la plasticidad de los

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto



sistemas de reparación del ADN y la aparición de mecanismos adaptativos de resistencia, como la restauración funcional de la recombinación homóloga o la estabilización de la horquilla de replicación, limitan la eficacia sostenida de estas terapias.

KEYWORDS

Lung cancer
DNA repair
polymorphisms
Homologous
recombination
Treatment
resistance
Personalized
medicine

ABSTRACT

Lung cancer remains the leading cause of cancer-related mortality worldwide, largely due to the ability of tumor cells to develop both intrinsic and acquired resistance to therapies that induce DNA damage. In this context, the cellular response to genotoxic stress, particularly the efficiency of DNA double-strand break repair, has emerged as a key determinant of therapeutic response and disease progression.

In recent years, the study of DNA repair has evolved from a gene-centric perspective to a more integrated view of the DNA damage response (DDR), where pathways such as homologous recombination, non-homologous end joining, and replication fork protection act in a coordinated manner to preserve genomic stability. Disruptions in these processes not only contribute to tumorigenesis but also critically influence the response to DNA-damaging agents, including platinum-based chemotherapy, topoisomerase inhibitors, and targeted therapies such as PARP inhibitors.

Early studies, including analyses of functional polymorphisms in homologous recombination genes such as XRCC3, NBS1, and BRCA2, have suggested that genetic variability within these pathways may modulate the accumulation of carcinogen-induced DNA damage and shape characteristic mutational signatures, such as tobacco-associated transversions in the TP53 gene. In particular, variants in NBS1 have been associated with increased mutational burden and chromosomal instability, supporting the notion that DNA repair capacity directly influences tumor evolution.

More recently, these findings have been incorporated into the concept of homologous recombination deficiency (HRD), which has gained a central role as a predictive biomarker for targeted therapies and as the basis for synthetic lethality-based strategies. However, the dynamic nature of DNA repair systems and the emergence of adaptive resistance mechanisms, including restoration of homologous recombination function and replication fork stabilization, limit the long-term efficacy of these treatments.

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón continúa siendo la principal causa de mortalidad por cáncer a nivel mundial, en gran medida debido a la elevada capacidad de las células tumorales para desarrollar resistencia, tanto intrínseca como adquirida, frente a terapias que inducen daño en el ADN. A pesar de los avances en cirugía, radioterapia, terapias dirigidas e inmunoterapia, la mayoría de los pacientes con enfermedad avanzada experimenta progresión, lo que pone de manifiesto la necesidad de comprender en

profundidad los mecanismos biológicos que subyacen a la farmacorresistencia. En este contexto, los sistemas de mantenimiento del genoma desempeñan un papel fundamental en la prevención de la acumulación de alteraciones genéticas y en la modulación de la respuesta a los tratamientos antitumorales (1). Una característica central de la biología del cáncer de pulmón es la acumulación progresiva de alteraciones genómicas impulsadas tanto por carcinógenos exógenos, especialmente los derivados del humo del tabaco, como por fuentes endógenas de daño asocia-

das al estrés replicativo y a la inestabilidad cromosómica. En este escenario, la respuesta celular al daño en el ADN no constituye únicamente un mecanismo pasivo de mantenimiento genómico, sino un proceso dinámico que condiciona la evolución tumoral, la heterogeneidad clonal y la adaptación a presiones selectivas, incluyendo las terapias antineoplásicas (2).

En los últimos años, el estudio de la reparación del ADN ha evolucionado desde un enfoque centrado en genes individuales hacia una visión integrada de la respuesta al daño genético (DNA damage response, DDR). Esta red engloba múltiples vías coordinadas, entre ellas la recombinación homóloga (HR), la unión de extremos no homólogos (NHEJ), los puntos de control del ciclo celular y los mecanismos de protección de la horquilla de replicación, que actúan conjuntamente para preservar la estabilidad genómica. Alteraciones en estos sistemas no solo favorecen la tumorigénesis, sino que también determinan la sensibilidad o resistencia a agentes terapéuticos que inducen daño genotóxico, incluyendo los compuestos de platino, la radioterapia y diferentes estrategias dirigidas contra vulnerabilidades de reparación del ADN (3,4). Este marco conceptual se resume en la Figura 1.

Dentro de este contexto, estudios iniciales centrados en la variabilidad genética de genes reparadores, incluyendo polimorfismos funcionales en componentes de la recombinación homóloga como XRCC3, NBS1 y BRCA2, han aportado evidencias de que la eficiencia de la reparación del ADN puede modular la acumulación de daño inducido por carcinógenos y contribuir a la configuración del paisaje mutacional tumoral (5). Estos trabajos sugieren que alteraciones sutiles en la capacidad de reparación pueden influir tanto en la susceptibilidad al cáncer como en la respuesta a tratamientos basados en daño genómico.

Más recientemente, estos hallazgos se han integrado en el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que ha adquirido un papel central como biomarcador

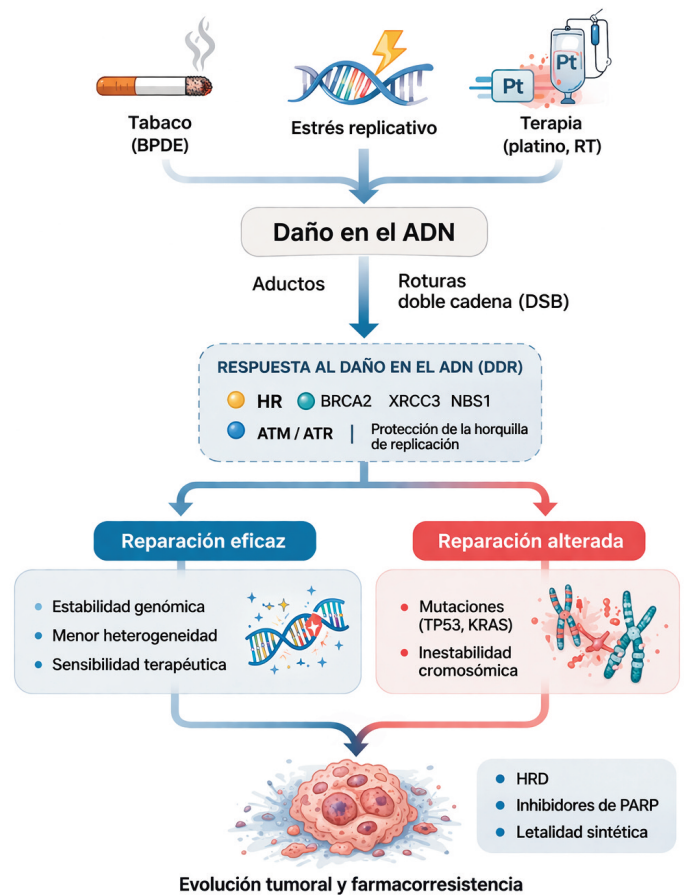


Figura 1. Modelo conceptual del papel de la respuesta al daño en el ADN (DDR) en la evolución tumoral y la resistencia terapéutica en cáncer de pulmón. Las células tumorales están expuestas a múltiples fuentes de daño genómico, incluyendo carcinógenos del tabaco, estrés replicativo y tratamientos oncológicos que inducen lesiones en el ADN. La activación de la DDR, que integra vías como la recombinación homóloga (HR), la unión de extremos no homólogos (NHEJ) y la protección de la horquilla de replicación, determina el destino celular. Una reparación eficaz favorece la estabilidad genómica y la sensibilidad terapéutica, mientras que una reparación alterada conduce a la acumulación de mutaciones, inestabilidad cromosómica y desarrollo de resistencia. Este equilibrio dinámico sustenta conceptos clínicos como la deficiencia en recombinación homóloga (HRD) y la vulnerabilidad a terapias basadas en letalidad sintética, incluyendo los inhibidores de PARP.

predictivo de respuesta terapéutica y como base biológica de estrategias de letalidad sintética. Sin embargo, la plasticidad de los sistemas de reparación del ADN y la aparición de mecanismos adaptativos de resistencia, como la restauración funcional de la recombinación homóloga o la estabilización de la horquilla de replicación, limitan la eficacia sostenida de estas aproximaciones terapéuticas (4).

2. CÁNCER DE PULMÓN COMO ENFERMEDAD DE INESTABILIDAD GENÓMICA Y CONTEXTO TERAPÉUTICO

El cáncer de pulmón constituye un grupo heterogéneo de neoplasias que, desde el punto de vista clínico y biológico, se clasifican principalmente en dos grandes entidades: el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), que representa aproximadamente el 80-85% de los casos, y el cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC), caracterizado por una mayor agresividad biológica y una elevada tasa de proliferación (6,7). (Figura 2).

El NSCLC engloba distintos subtipos histológicos, principalmente adenocarcinoma, carcinoma escamoso y carcinoma de células grandes, que presentan diferencias en su ori-

gen celular, perfil molecular y respuesta terapéutica. En las últimas décadas, la caracterización genética de estos tumores ha permitido identificar alteraciones oncogénicas recurrentes, como mutaciones en EGFR, reordenamientos en ALK o alteraciones en KRAS, lo que ha impulsado el desarrollo de terapias dirigidas. Sin embargo, a pesar de estos avances, la aparición de resistencia terapéutica sigue siendo prácticamente inevitable, reflejando la capacidad adaptativa de las células tumorales (7).

Por su parte, el SCLC se caracteriza por una elevada carga mutacional, una marcada inestabilidad genómica y una fuerte asociación con el consumo de tabaco. A nivel molecular, estos tumores presentan con frecuencia alteraciones en TP53 y RB1, así como una alta dependencia de mecanismos de respuesta al daño en el ADN, lo que los convierte en un modelo paradigmático de tumor impulsado por estrés genotóxico (8).

A pesar de sus diferencias, ambos subtipos comparten una característica fundamental: la exposición continua a presiones selectivas, tanto ambientales como terapéuticas, que favorecen la selección de clones tumorales con mayor capacidad de tolerar o reparar el daño en el ADN. En este contexto, los tratamientos

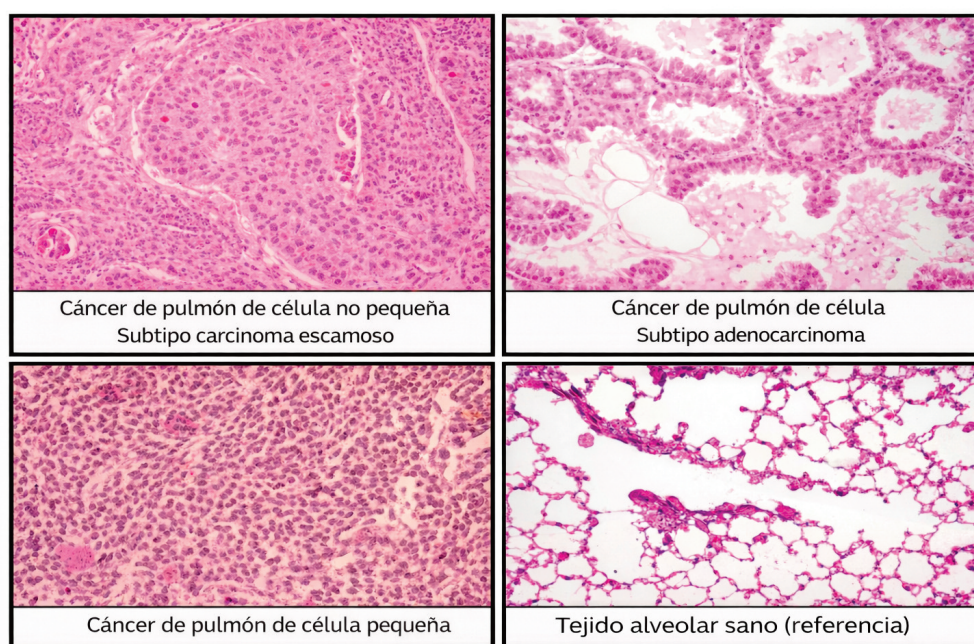


Figura 2. Subtipos histológicos del cáncer de pulmón



estándar, especialmente aquellos basados en agentes que inducen roturas de doble cadena, como los compuestos de platino o la radioterapia, actúan como potentes fuerzas evolutivas que modelan la composición clonal del tumor.

Así, la interacción entre daño genómico, mecanismos de reparación del ADN y presión terapéutica define un proceso dinámico de evolución tumoral. La capacidad de las células cancerosas para modular la actividad de las vías de reparación, incluyendo la recombinación homóloga y la unión de extremos no homólogos, no solo condiciona la eficacia inicial de los tratamientos, sino también la aparición de resistencia adquirida y la progresión de la enfermedad (4).

3. DAÑO GENÓMICO INDUCIDO POR TABACO Y FIRMAS MUTACIONALES

El humo del tabaco constituye la principal fuente de exposición a carcinógenos en el cáncer de pulmón, conteniendo miles de compuestos químicos, entre los cuales destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y las nitrosaminas específicas del tabaco. Estos compuestos, tras su activación metabólica mediada por enzimas del citocromo P450, generan metabolitos altamente reactivos capaces de formar aductos covalentes con el ADN, interfiriendo con la correcta replicación y estabilidad del material genético (9).

La formación de estos aductos representa uno de los mecanismos iniciales clave en la carcinogénesis inducida por el tabaco. En condiciones normales, estos daños son reconocidos y eliminados por los sistemas de reparación del ADN. Sin embargo, cuando la reparación es ineficiente o incompleta, los aductos persisten y pueden dar lugar a errores durante la replicación, generando mutaciones puntuales características. Entre ellas, las transversiones G T constituyen una firma mutacional distintiva del daño inducido por carcinógenos del tabaco, particularmente en genes supresores tumorales como TP53 (10,11).

Este patrón mutacional refleja la acción directa de compuestos como el benzopireno diol-epóxido sobre residuos de guanina, generando lesiones que, si no son eliminadas por los sistemas de reparación del ADN, se traducen en sustituciones de bases específicas. Como se muestra en la Figura 3, existe una relación directa entre la formación de aductos en el ADN, la aparición de transversiones características y la localización de hotspots mutacionales en el gen TP53, lo que evidencia la conexión entre daño químico directo y selección de mutaciones funcionalmente relevantes.

En este contexto, los análisis genómicos han permitido integrar estos patrones dentro del concepto de firmas mutacionales, que reflejan tanto la historia de exposición a carcinógenos como la actividad de los sistemas de reparación del ADN. En el cáncer de pulmón asociado al tabaco, la denominada “Signature 4” se caracteriza por un predominio de transversiones C>A y se asocia de manera directa con la exposición a carcinógenos del humo del tabaco (12,13). La comparación entre tumores de fumadores y no fumadores revela diferencias claras en la distribución de tipos de mutaciones, lo que subraya el impacto de los factores ambientales en la configuración del paisaje mutacional tumoral (Figura 3).

Además de inducir mutaciones puntuales, los carcinógenos del tabaco pueden generar formas más complejas de daño genómico, incluyendo roturas de doble cadena, consideradas una de las lesiones más críticas para la integridad del genoma. La incapacidad para reparar adecuadamente estas lesiones contribuye a la inestabilidad cromosómica, favoreciendo la acumulación de alteraciones estructurales y promoviendo la progresión tumoral.

En este marco, la eficiencia de los sistemas de reparación del ADN emerge como un factor determinante en la acumulación de daño genómico inducido por el tabaco. Estudios iniciales centrados en polimorfismos funcionales en genes implicados en la recombinación homó-

loga, como XRCC3, NBS1 y BRCA2, han demostrado que la variabilidad genética en estos sistemas puede modular la aparición de mutaciones características, incluyendo las transversiones en TP53 asociadas al tabaquismo (5). Estos hallazgos sugieren que diferencias interindividuales en la capacidad de reparación del ADN no solo influyen en la susceptibilidad al cáncer, sino también en la configuración del paisaje mutacional y en la respuesta a terapias basadas en daño genómico.

4. VÍAS DE RESPUESTA AL DAÑO EN EL ADN (DNA DAMAGE RESPONSE, DDR)

La respuesta al daño en el ADN (DNA damage response, DDR) constituye una red altamente integrada de mecanismos celulares encargados de detectar, señalar y reparar las lesiones genómicas, así como de coordinar la progresión del ciclo celular en respuesta a dicho daño. Esta red incluye múltiples vías de reparación del ADN, sistemas de control del ciclo celular y mecanismos de tolerancia al daño que actúan de manera coordinada para preservar la estabilidad genómica (1,3).

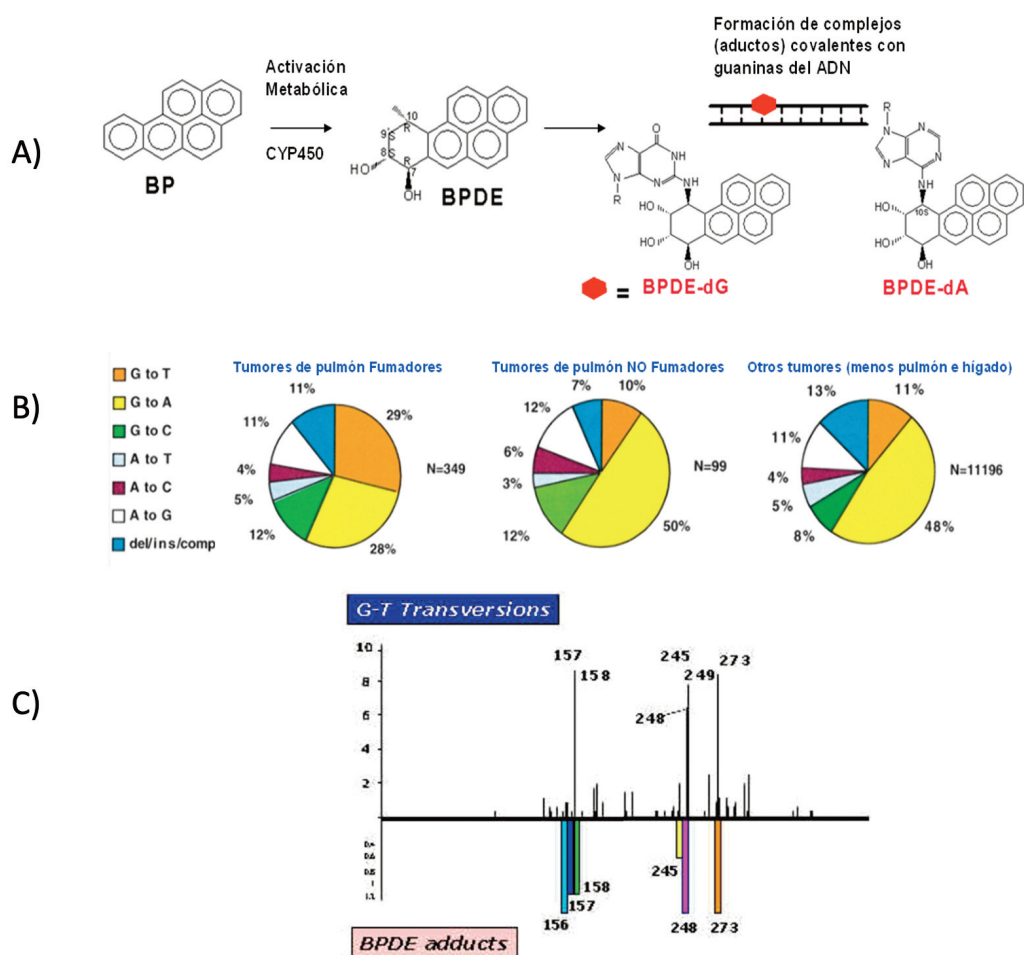


Figura 3. Daño inducido por carcinógenos del tabaco y consecuencias mutacionales en cáncer de pulmón. (A) Activación metabólica de hidrocarburos aromáticos policíclicos como el benzopireno y formación de aductos covalentes con el ADN. (B) Distribución de tipos de mutaciones en tumores de pulmón de fumadores y no fumadores, evidenciando el predominio de transversiones asociadas al tabaco. (C) Distribución de transversiones en el gen TP53 y su correspondencia con regiones preferenciales de formación de aductos, mostrando la relación entre daño químico directo y hotspots mutacionales.

Entre las distintas formas de daño genómico, las roturas de doble cadena representan una de las lesiones más críticas, debido a su potencial para generar inestabilidad cromosómica y alteraciones estructurales del genoma. Para su reparación, las células disponen principalmente de dos mecanismos: la recombinación homóloga y la unión de extremos no homólogos, que difieren tanto en su fidelidad como en su regulación (1).

La recombinación homóloga es un proceso de alta fidelidad que utiliza una secuencia homóloga, generalmente la cromátida hermana, como molde para reparar la lesión de manera precisa. Este mecanismo implica una serie de eventos coordinados que incluyen la detección del daño, el procesamiento de los extremos del ADN y la formación de complejos nucleoproteicos que permiten la búsqueda de homología y la síntesis de ADN (Figura 4). A nivel molecular, este proceso depende de proteínas clave como BRCA1, BRCA2, RAD51 y sus parálogos, incluyendo XRCC3, así como del complejo MRN, que actúa en las fases iniciales del reconocimiento del daño.

Por el contrario, la unión de extremos no homólogos es un mecanismo más rápido pero propenso al error, que no requiere una secuencia homóloga y que puede introducir pequeñas inserciones o deleciones en los puntos de unión. Este sistema es activo a lo largo de todo el ciclo celular y constituye una vía fundamental en células no proliferativas, aunque su uso reiterado puede contribuir a la inestabilidad genómica.

La elección entre estas vías está regulada por factores del ciclo celular y por la señalización mediada por quinasas como ATM y ATR, que actúan como nodos centrales de la DDR. Estas proteínas coordinan la activación de puntos de control del ciclo celular, la reparación del ADN y, en casos de daño irreparable, la activación de programas de muerte celular (4).

Además, mecanismos como la protección de la horquilla de replicación han emergido como elementos clave en la respuesta al estrés ge-

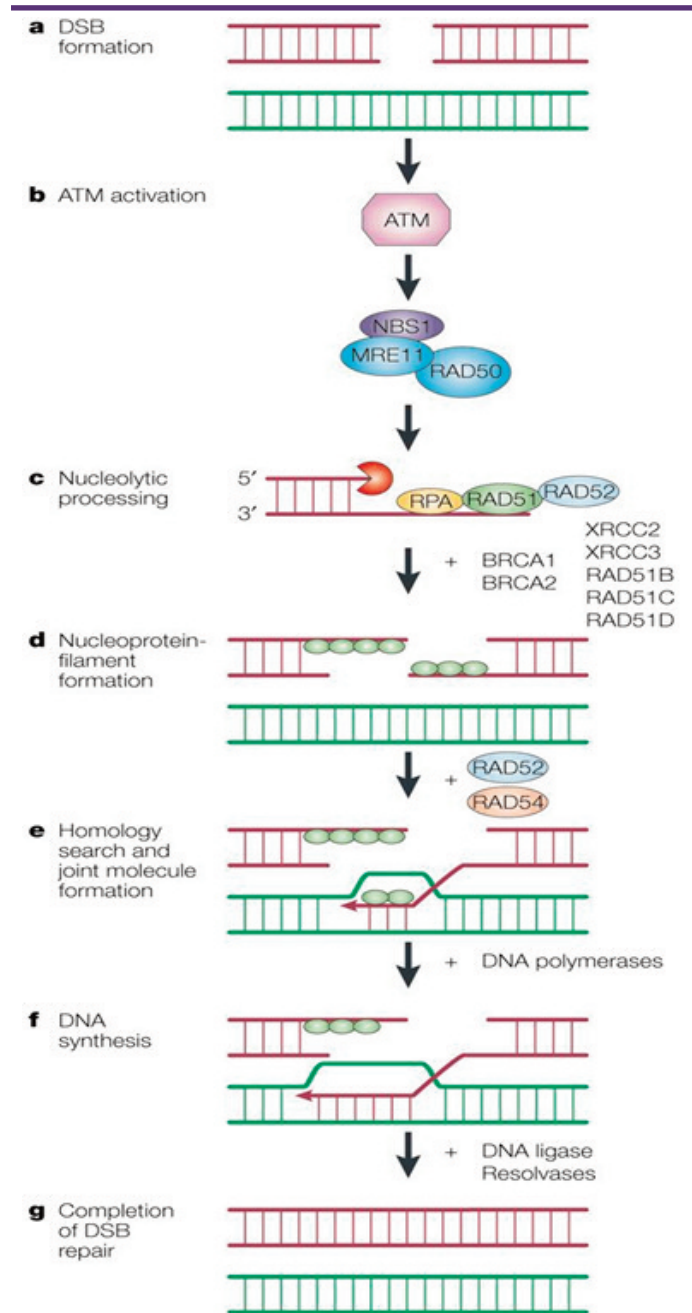


Figura 4. Reparación de roturas de doble cadena mediante recombinación homóloga (HR). (A) Generación de una rotura de doble cadena en el ADN. (B) Activación de la respuesta al daño mediante ATM y reclutamiento del complejo MRN (MRE11-RAD50-NBS1). (C) Procesamiento nucleolítico de los extremos del ADN y generación de extremos 3' monocatenarios. (D) Formación del filamento nucleoproteico mediado por RAD51 y proteínas asociadas, incluyendo BRCA1, BRCA2 y parálogos como XRCC3. (E) Búsqueda de homología e invasión de cadena en la cromátida hermana. (F) Síntesis de ADN utilizando la secuencia homóloga como molde. (G) Resolución de la estructura intermedia y finalización de la reparación (van Gent, et al. 2001).



notóxico, especialmente en células tumorales con alta proliferación. La desregulación de estos procesos contribuye a la acumulación de daño en el ADN y favorece la evolución tumoral.

En este contexto, las alteraciones en la DDR no solo participan en la iniciación del cáncer, sino que también determinan la respuesta a terapias basadas en daño genómico. Defectos en la recombinación homóloga generan vulnerabilidades específicas que pueden ser explotadas mediante estrategias de letalidad sintética, como el uso de inhibidores de PARP (3,4).

5. DE POLIMORFISMOS EN GENES DE REPARACIÓN A DEFICIENCIA EN RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA (HRD)

Los estudios iniciales sobre la variabilidad genética en genes implicados en la reparación del ADN se centraron en el análisis de polimorfismos funcionales en componentes de la recombinación homóloga, como *XRCC3*, *NBS1* y *BRCA2*. Estas variantes fueron inicialmente investigadas como posibles determinantes de susceptibilidad tumoral y moduladores de la respuesta celular al daño genómico.

En este contexto, trabajos pioneros demostraron que determinadas variantes genéticas podían influir en la acumulación de daño inducido por carcinógenos y en la aparición de patrones mutacionales específicos. En particular, el análisis de polimorfismos en genes de recombinación homóloga en pacientes con cáncer de pulmón reveló una asociación significativa entre la variante *NBS1-185Gln* y la presencia de mutaciones en *TP53*, especialmente transversiones características del daño inducido por el tabaco (5). Estos hallazgos aportaron evidencia temprana de que la eficiencia de los sistemas de reparación del ADN puede modular tanto la estabilidad genómica como la naturaleza del paisaje mutacional tumoral.

Sin embargo, los enfoques basados en genes individuales resultaron insuficientes para capturar la complejidad funcional de la respuesta al daño en el ADN (DDR). En los últimos años, este paradigma ha evolucionado hacia el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que integra alteraciones en múltiples componentes de la vía en un estado funcional común (Figura 5).

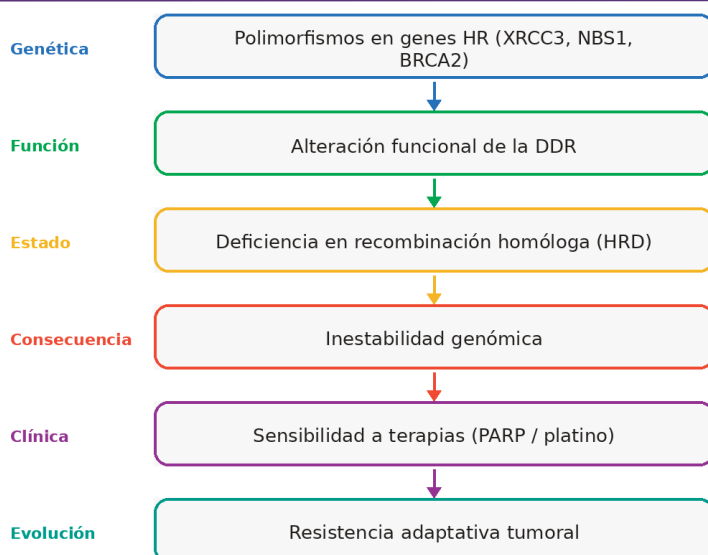


Figura 5. Transición conceptual desde polimorfismos en genes de reparación del ADN hacia un estado funcional de deficiencia en recombinación homóloga (HRD). Los polimorfismos en genes clave de la recombinación homóloga pueden generar alteraciones funcionales en la respuesta al daño en el ADN (DDR), que convergen en un estado de HRD. Este estado se asocia con inestabilidad genómica, condiciona la sensibilidad a terapias basadas en daño en el ADN y favorece la aparición de mecanismos de resistencia adaptativa.



La HRD se caracteriza por una incapacidad de las células tumorales para reparar de manera eficiente las roturas de doble cadena mediante recombinación homóloga, lo que conduce a la acumulación de alteraciones genómicas específicas, incluyendo inestabilidad cromosómica y firmas mutacionales características. Es importante destacar que la HRD no se limita a mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2*, sino que puede surgir como consecuencia de alteraciones en diversos genes o de mecanismos regulatorios que afectan a la funcionalidad global de la vía.

Desde el punto de vista clínico, la HRD ha adquirido un papel central como biomarcador predictivo de respuesta a terapias basadas en daño en el ADN. La incapacidad para reparar adecuadamente estas lesiones genera una dependencia de vías alternativas de reparación, lo que puede ser explotado mediante estrategias de letalidad sintética, como el uso de inhibidores de PARP (3,4).

No obstante, esta vulnerabilidad no es estática. Las células tumorales pueden desarrollar mecanismos de resistencia mediante la restauración parcial de la recombinación homóloga, mutaciones reversoras o la estabilización de la horquilla de replicación. Estos procesos reflejan la plasticidad de la DDR y su papel central en la adaptación tumoral frente a la presión terapéutica.

En este contexto, los estudios iniciales basados en polimorfismos, incluyendo los realizados en genes como *NBS1*, *XRCC3* y *BRCA2*, pueden reinterpretarse como aproximaciones tempranas a la identificación de estados funcionales de deficiencia en la reparación del ADN. Así, la variabilidad genética en estos genes no solo influye en la susceptibilidad tumoral, sino también en la respuesta terapéutica y en la evolución de la enfermedad.

6. REPARACIÓN DEL ADN COMO VULNERABILIDAD TERAPÉUTICA EN CÁNCER DE PULMÓN

La dependencia de las células tumorales de mecanismos específicos de reparación del ADN constituye una vulnerabilidad terapéutica

clave que ha sido ampliamente explotada en oncología en los últimos años. En el cáncer de pulmón, caracterizado por una elevada carga mutacional y exposición a daño genómico, las alteraciones en la respuesta al daño en el ADN (DDR) no solo contribuyen a la carcinogénesis, sino que también generan oportunidades terapéuticas basadas en la explotación de estas deficiencias.

Uno de los ejemplos más paradigmáticos es el uso de compuestos de platino, como cisplatino o carboplatino, que inducen enlaces cruzados en el ADN y generan roturas de doble cadena durante la replicación. La eficacia de estos tratamientos depende en gran medida de la capacidad de las células tumorales para reparar dicho daño mediante recombinación homóloga. En este contexto, los tumores con deficiencia en recombinación homóloga (HRD) presentan una mayor sensibilidad a estos agentes, lo que ha sido ampliamente demostrado en diferentes tipos tumorales, incluyendo el cáncer de pulmón (3,15).

El desarrollo de inhibidores de PARP (poly ADP-ribose polymerase) ha supuesto un avance significativo en la explotación terapéutica de la DDR. PARP1 desempeña un papel fundamental en la reparación de roturas de cadena simple, y su inhibición conduce a la acumulación de lesiones que, durante la replicación, se convierten en roturas de doble cadena. En células con una recombinación homóloga funcional, estas lesiones pueden ser reparadas; sin embargo, en células con HRD, la incapacidad para resolver este daño conduce a la muerte celular, un fenómeno conocido como letalidad sintética (16,17).

Además de PARP, otras dianas de la DDR han emergido como estrategias terapéuticas prometedoras. Entre ellas destacan las quinasas ATR y CHK1, que desempeñan un papel central en la respuesta al estrés replicativo. La inhibición de estas proteínas puede potenciar el daño en el ADN y aumentar la eficacia de tratamientos citotóxicos, especialmente en tumores con alta proliferación y alteraciones en los puntos de control del ciclo celular (18).



No obstante, la eficacia de estas estrategias está condicionada por la plasticidad de los sistemas de reparación del ADN. Las células tumorales pueden desarrollar múltiples mecanismos de resistencia, incluyendo la restauración parcial de la recombinación homóloga mediante mutaciones reversoras en genes como BRCA1 o BRCA2, la pérdida de factores que regulan la elección de la vía de reparación o la estabilización de la horquilla de replicación (17). Estos mecanismos limitan la eficacia a largo plazo de las terapias dirigidas a la DDR y subrayan la necesidad de estrategias combinadas.

En este contexto, la integración de biomarcadores funcionales, como el estado HRD o las firmas mutacionales, resulta esencial para optimizar la selección de pacientes y mejorar la eficacia terapéutica. Como se ilustra en la Figura 6, la interacción entre deficiencias en la reparación del ADN, tratamiento y adaptación

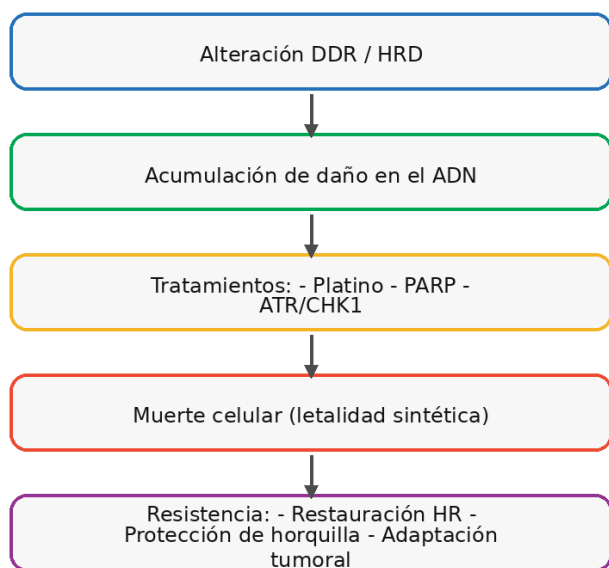


Figura 6. Explotación terapéutica de la deficiencia en reparación del ADN y desarrollo de resistencia. Las alteraciones en la respuesta al daño en el ADN generan vulnerabilidades que pueden ser explotadas mediante tratamientos como compuestos de platino, inhibidores de PARP o inhibidores de ATR/CHK1. En tumores con deficiencia en recombinación homóloga, estas estrategias inducen letalidad sintética. Sin embargo, la plasticidad tumoral permite la aparición de mecanismos de resistencia que limitan la eficacia terapéutica.

tumoral define un proceso dinámico que condiciona tanto la respuesta inicial como la aparición de resistencia.

7. MECANISMOS DE RESISTENCIA A TERAPIAS DIRIGIDAS A LA DDR

A pesar del éxito inicial de las terapias dirigidas a la respuesta al daño en el ADN (DDR), la aparición de resistencia constituye una limitación significativa para su eficacia a largo plazo. Los tumores presentan una notable capacidad de adaptación frente a la presión terapéutica, lo que conduce a la reprogramación de los mecanismos de reparación del ADN y a la restauración de la viabilidad celular.

Uno de los mecanismos más relevantes es la restauración funcional de la recombinación homóloga. En tumores con alteraciones en genes como BRCA1 o BRCA2, se han descrito mutaciones reversoras que permiten recuperar parcialmente la actividad de estas proteínas, reduciendo la sensibilidad a inhibidores de PARP y a compuestos de platino (17). De forma similar, la pérdida de factores reguladores de la elección de la vía de reparación puede favorecer el uso de recombinación homóloga en lugar de mecanismos alternativos más propensos al error.

Otro mecanismo clave es la estabilización de la horquilla de replicación. Las células tumorales pueden adquirir la capacidad de proteger las estructuras replicativas frente al colapso inducido por estrés genotóxico, evitando así la generación de roturas de doble cadena y reduciendo la dependencia de la recombinación homóloga (18). Este proceso representa una vía alternativa de resistencia que no implica necesariamente la restauración directa de la HR.

Además, la activación de vías compensatorias de reparación del ADN, así como cambios en la regulación del ciclo celular, pueden contribuir a la tolerancia al daño genómico. La sobreexpresión de proteínas implicadas en la DDR o la alteración de puntos de control del ciclo celular permiten a las células tumorales sobrevivir en condiciones de daño persistente.

8. IMPLICACIONES CLÍNICAS Y MEDICINA PERSONALIZADA

La creciente comprensión de la DDR y de la deficiencia en recombinación homóloga (HRD) ha tenido un impacto significativo en el desarrollo de estrategias de medicina personalizada en oncología. La identificación de biomarcadores funcionales que reflejen el estado de los sistemas de reparación del ADN resulta clave para optimizar la selección de pacientes y mejorar la eficacia de los tratamientos.

En este contexto, el estado HRD ha emergido como un biomarcador predictivo de respuesta a terapias basadas en daño genómico, incluyendo compuestos de platino e inhibidores de PARP. Sin embargo, su evaluación presenta desafíos importantes, ya que la HRD no depende exclusivamente de mutaciones en genes específicos, sino de la funcionalidad global de la vía de recombinación homóloga.

El análisis de firmas mutacionales, patrones de inestabilidad genómica y alteraciones en múltiples genes de la DDR está siendo incorporado progresivamente en la práctica clínica para una caracterización más precisa de los tumores. En el cáncer de pulmón, donde la heterogeneidad molecular es elevada, este enfoque integrado resulta especialmente relevante.

Asimismo, la integración de datos genómicos, transcriptómicos y funcionales permitirá en el futuro una mejor estratificación de los pacientes y la identificación de combinaciones terapéuticas más eficaces. En este sentido, los estudios iniciales basados en polimorfismos en genes de reparación del ADN pueden considerarse precursores de las actuales estrategias de caracterización molecular.

No obstante, la implementación clínica de estos enfoques requiere la estandarización de métodos de análisis, la validación de biomarcadores y la integración de estos datos en la toma de decisiones clínicas.

9. CONCLUSIONES

El cáncer de pulmón representa un modelo paradigmático de tumor caracterizado por una elevada inestabilidad genómica y una fuerte dependencia de los sistemas de reparación del ADN. La interacción entre exposición a carcinógenos, generación de daño genómico y eficiencia de la respuesta al daño en el ADN (DDR) define tanto la evolución tumoral como la respuesta a los tratamientos.

Los estudios iniciales sobre polimorfismos en genes de recombinación homóloga, incluyendo *XRCC3*, *NBS1* y *BRCA2*, proporcionaron evidencias tempranas del papel de la variabilidad genética en la modulación de la respuesta al daño en el ADN y en la configuración del paisaje mutacional tumoral. Estos hallazgos han evolucionado hacia el concepto de deficiencia en recombinación homóloga (HRD), que integra alteraciones funcionales de la DDR en un marco conceptual común con importantes implicaciones clínicas.

La explotación terapéutica de estas vulnerabilidades, mediante el uso de compuestos de platino, inhibidores de PARP y otras estrategias dirigidas a la DDR, ha abierto nuevas oportunidades en el tratamiento del cáncer de pulmón. Sin embargo, la plasticidad tumoral y la aparición de mecanismos de resistencia representan desafíos significativos que requieren un enfoque integrado y dinámico.

En este contexto, el desarrollo de biomarcadores funcionales y la implementación de estrategias de medicina personalizada serán esenciales para optimizar la eficacia terapéutica y mejorar el pronóstico de los pacientes. La comprensión profunda de los mecanismos de reparación del ADN y su interacción con la farmacorresistencia constituye, por tanto, un elemento clave en el avance hacia una oncología de precisión.



10. REFERENCIAS

1. Hoeijmakers JHJ. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001;411:366-74.
2. Hanahan D. Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discov* 2022;12:31-46.
3. Helleday T, Petermann E, Lundin C, Hodgson B, Sharma RA. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2008;8:193-204.
4. Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature* 2012;481:287-94.
5. Medina PP, Ahrendt SA, Pollan M, Fernandez P, Sidransky D, Sanchez-Cespedes M. Screening of homologous recombination gene polymorphisms in lung cancer patients reveals an association of the NBS1-185Gln variant and p53 gene mutations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:699-704.
6. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol* 2015;10:1243-60.
7. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature* 2018;553:446-54.
8. George J, Lim JS, Jang SJ, Cun Y, Ozretic L, Kong G, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature* 2015;524:47-53.
9. Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:733-44.
10. Pfeifer GP, Denissenko MF, Olivier M, Tretyakova N, Hecht SS, Hainaut P. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene* 2002;21:7435-51.
11. Pfeifer GP, Hainaut P. On the origin of G->T transversions in lung cancer. *Mutat Res* 2003;526:39-43.
12. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SAJR, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 2013;500:415-21.
13. Alexandrov LB, Ju YS, Haase K, Van Loo P, Martincorena I, Nik-Zainal S, et al. Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. *Science* 2016;354:618-22.
14. van Gent DC, Hoeijmakers JH, Kanaar R. Chromosomal stability and the DNA double-strand break connection. *Nat Rev Genet* 2001;2:196-206.
15. O'Connor MJ. Targeting the DNA damage response in cancer. *Mol Cell* 2015;60:547-60.
16. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt ANJ, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature* 2005;434:917-21.
17. Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: synthetic lethality in the clinic. *Science* 2017;355:1152-8.
18. Lecona E, Fernandez-Capetillo O. Targeting ATR in cancer. *Nat Rev Cancer* 2018;18:586-95.

Si desea citar nuestro artículo:
**Reparación del ADN y farmacoresistencia
en cáncer de pulmón**

Pedro Medina Vico

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 92. nº 2 (2026) · pp. 227-238

DOI:<http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.01.06>



ARTÍCULO DE IREVISIÓN

El retorno económico y social de la inversión en investigación científica

The economic and social return on investment in scientific research

Santiago Cuéllar Rodríguez

Académico Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia.

<https://orcid.org/0000-0002-8099-9226>e-mail: santiago.cuellar.rodriguez@gmail.comRecibido el 13 de junio de 2026; aceptado el 15 de junio de 2026
Disponible en internet el 30 de junio de 2026**PALABRAS CLAVE**

Investigación científica
Retorno económico
Inversión pública
Tasa Interna de Rentabilidad (TIR)
Valor Actual Neto (VAN)
Retorno Social de la Inversión (RSI)
Tasa Social de Retorno (TSR)

RESUMEN

La inversión en I+D se traduce en un multiplicador económico positivo, donde cada unidad monetaria invertida genera entre \$1.5 y \$3.0 en crecimiento del PIB, impulsando la productividad, la innovación empresarial y la creación de empleo de alto valor. La intensidad investigadora global a nivel mundial (gasto en I+D respecto al PIB) rondaba el 2,7 % en 2024, con líderes destacados como Israel (6,8 %) y Corea del Sur (5,1 %), seguidos por Japón (3,6 %), Suecia (3,6 %), Estados Unidos (3,4 %), Bélgica (3,4 %), Austria (3,3 %), Finlandia (3,2 %), Alemania (3,1 %) y Dinamarca (3,0 %); en China era del 2,7 % y en la Unión Europea del 2,2 % (en España el 1,5 %). El retorno económico de la inversión en investigación científica se manifiesta principalmente como beneficios directos (patentes, spin-offs y comercialización de productos), indirectos (transferencia tecnológica e I+D corporativa) y sociales (ahorros en salud y mejora de capital humano). La métrica más usada por los economistas para calcular el retorno económico a corto plazo es el retorno de inversión (ROI; return on investment), mientras que a largo plazo se utilizan otras métricas tales como la Tasa Interna de Rentabilidad (TIR) y el Valor Actual Neto (VAN). En la investigación científica pública, el TIR se evalúa calculando el impacto socioeconómico frente al presupuesto estatal, de ahí que los estudios económicos suelen evaluar lo que se conoce como Retorno Social de la Inversión (RSI) en lugar de la TIR financiera pura. El retorno económico de la investigación científica en Estados Unidos se estima en \$2.56 de actividad económica por cada dólar invertido en investigación biomédica federal, con retornos históricos que alcanzan el 150% al 300% de la inversión inicial. En China, la Tasa Social de Retorno (TSR) de la investigación básica y aplicada a nivel global oscila entre el 50 % y el 100 %. Por cada euro que la Unión Europea invierte en su programa marco de investigación, se generan hasta 11 euros en crecimiento del PIB a largo plazo y 6 euros en valor social. Además, cada euro inyectado en empresas innovadoras atrae más de tres euros adicionales procedentes de inversores privados. En el caso concreto

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.

ISSN: 1697-4271 E-ISSN: 1697-428X/Derechos Reservados © 2026 Real Academia Nacional de Farmacia.

Este es un artículo de acceso abierto



de España, el retorno económico de la investigación científica se sitúa en un multiplicador estimado de 1,2 a 3 euros por cada euro invertido. Cada libra esterlina de inversión pública en I+D en Gran Bretaña genera 2 libras esterlinas de inversión privada y 7 libras esterlinas en beneficios económicos a través de avances en habilidades, bienes y servicios.

KEYWORDS

Scientific research
Economic return
Public investment
Internal Rate of Return (IRR)
Net Present Value (NPV)
Social Return on Investment (SROI)
Social Rate of Return (SRR)

ABSTRACT

Investment in R&D translates into a positive economic multiplier, where each monetary unit invested generates between \$1.5 and \$3.0 in GDP growth, boosting productivity, business innovation, and the creation of high-value jobs. Global research intensity (R&D spending as a percentage of GDP) was around 2.7% in 2024, with leading countries such as Israel (6.8%) and South Korea (5.1%), followed by Japan (3.6%), Sweden (3.6%), the United States (3.4%), Belgium (3.4%), Austria (3.3%), Finland (3.2%), Germany (3.1%), and Denmark (3.0%). In China, it was 2.7%, and in the European Union, 2.2% (1.5% in Spain). The economic return on investment in scientific research manifests primarily as direct benefits (patents, spin-offs, and product commercialization), indirect benefits (technology transfer and corporate R&D), and social benefits (savings in healthcare and improvements in human capital). The metric most commonly used by economists to calculate short-term economic returns is return on investment (ROI), while in the long term, other metrics such as internal rate of return (IRR) and net present value (NPV) are used. In publicly funded scientific research, the IRR is evaluated by calculating the socioeconomic impact against the state budget; therefore, economic studies often assess what is known as the social return on investment (SROI) rather than the pure financial IRR. The economic return on scientific research in the United States is estimated at \$2.56 of economic activity for every dollar invested in federal biomedical research, with historical returns reaching 150% to 300% of the initial investment. In China, the Social Rate of Return (SRR) for basic and applied research globally ranges from 50% to 100%. For every euro the European Union invests in its research framework program, up to 11 euros in long-term GDP growth and 6 euros in social value are generated. Furthermore, every euro invested in innovative companies attracts more than three additional euros from private investors. In Spain, the economic return on scientific research is estimated at a multiplier of 1.2 to 3 euros for every euro invested. Every pound of public investment in R&D in Great Britain generates 2 pounds of private investment and 7 pounds in economic benefits through advancements in skills, goods, and services.



1. INTRODUCCIÓN. COSTE Y VALOR DE LA CIENCIA

Según la última Encuesta de Percepción Social de la Ciencia y la Tecnología, realizada en 2025 para la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT), la ciudadanía española valora positivamente el papel de la ciencia, aunque demanda una mayor cercanía y conexión con la sociedad (1). Concretamente, el 76 % de la población declara confiar en la investigación científica; asimismo, un 79 % considera que los resultados de la investigación financiada con fondos públicos deben estar disponibles para todos de forma gratuita e incluso el 82 % afirma que la inversión pública en ciencia y tecnología debería aumentar. Pese a ello, algunos ciudadanos opinan que la investigación “es cara” o “una pérdida de dinero”, lo que se relaciona con el desconocimiento de los procesos científicos y una inadecuada e insuficiente divulgación.

¿Quién dijo que la inversión pública en investigación no produce beneficios económicos? Entre las personas peor informadas es frecuente escuchar que “la investigación científica es un lujo que la economía de los países no se puede permitir y que ese gasto solo beneficia a los investigadores académicos e impide que se pueda aplicar a otros sectores más prioritarios para la población”. Argumentos como éste son, por desgracia, cada vez más replicados en el mundo de la política y transmitidas como dogmas económicos a un público sediento de aseveraciones vibrantes, aunque sean falsas.

Francis Collins trabajó durante más de 30 años en los NIH (*National Institutes of Health*) de Estados Unidos, 12 de ellos como director, y lideró en el año 2000 el consorcio internacional que completó el primer borrador del *Proyecto Genoma Humano (PGH)*. En octubre de 2011, Collins inauguró en Washington el *35th Annual Symposium on Biomedical and Health Informatics* con una ponencia en la que afirmó que «en los diez años transcurridos desde que se completó la secuenciación del

genoma, el retorno económico se tradujo en una rentabilidad de la inversión de 141:1; una inversión de 3.000 millones de dólares generó un crecimiento económico de 790.000 millones de dólares” (2). Sin embargo, más allá de este espectacular resultado económico, Collins recordaba el PGH como un momento maravilloso: “poder decirle al mundo que ahora tenemos en nuestras manos, y es de acceso público, aproximadamente el 90% de las instrucciones de nuestro ADN. Se siente como cruzar un puente muy importante hacia el futuro. Nunca tendremos que volver a un lugar donde no lo supiéramos antes”. Y, como todo gran hombre, la humildad de Collins le llevó a expresar públicamente su “increíble gratitud a los 2.400 científicos de seis países que trabajaron para que esto sucediera. Sin preocuparse por quién se llevaría el crédito, aceptando altos estándares de precisión en la información y compartiéndola por completo”.

Quizá el corolario de esta introducción podría ser que aunque la investigación siempre es costosa, se da la paradoja de que ahorrar este coste provoca pobreza económica y - lo que no es menos importante - cultural. La investigación es cara, pero su ausencia lo es mucho más: no sólo genera riqueza económica (retorno económico y social exponencialmente aumentado de la inversión pública realizada por la sociedad), sino que permite universalizar un conocimiento amplio y riguroso, lo que es indispensable para el progreso generalizado y el ejercicio de las libertades individuales y colectivas; por tanto, tiende a restar poder a los tiranos - aunque sea a medio o largo plazo - y posibilidades a aquellos que aspiran a llegar a serlo.

2. INVESTIGACIÓN BÁSICA, APLICADA Y TRASLACIONAL

Es frecuente leer o escuchar en los medios generales de comunicación, e incluso en algunos académicos, cómo se diferencia la investigación científica en dos grandes apartados, *investigación básica e investigación aplicada*.



La *investigación básica*, muchas veces mencionada también como *pura* o *fundamental*, busca descubrir, confirmar, refutar u optimizar los principios científicos - leyes *matematizadas* - que permiten comprender sistemáticamente y predecir con el mejor grado posible de exactitud y precisión cualquier elemento o fenómeno observable y mensurable. En este sentido, conviene recordar que la *medición* es un integrante esencial de la ciencia, uno de sus sellos distintivos, fuente primaria de conocimiento e imprescindible nexo de unión entre teoría y experimentación, lo que permite que se retroalimenten recíprocamente y mejoren continuamente (3).

Por su parte, el término de *investigación aplicada* se suele emplear para describir el proceso de desarrollo de procedimientos, técnicas, dispositivos, máquinas o cualquier otra cosa susceptible de ser empleadas para ejecutar actividades que intervengan o modifiquen fenómenos específicos.

Sin embargo, la realidad científica resulta casi siempre demasiado compleja como para delimitar en la mayoría de casos los ámbitos de cada investigación, por lo que el significado de los términos *básica* y *aplicada* es ampliamente desbordado, cuando no solapado. Por eso, entre otras numerosas e importantes razones, cada vez está recibiendo una mayor atención lo que se conoce como *investigación traslacional* o *ciencias de transferencia*, cuyo objetivo es conectar directamente la investigación básica con la aplicada o tecnológica; es decir, traducir una ley o principio científico fundamental en algo que sea directamente utilizable por la sociedad, más allá del extraordinario valor intrínseco de la expansión y mejora del conocimiento. Un elemento constitutivo de la ciencia traslacional es lo que conoce como “prueba de concepto” (del inglés *proof of concept* o simplemente *PoC*), consistente en la realización en forma muy simple, resumida o incluso incompleta, de un mecanismo - físico, químico, electrónico, económico o de cualquier otra índole - susceptible de ser explotada de una manera útil, con el

fin primordial de demostrar que ese mecanismo, técnica o producto simplemente es posible, sin que ello pueda ser considerado como un prototipo inicial encaminado a la producción, pero sin el que esta última no sería posible.

Aunque la ciencia traslacional es fundamental en cualquier ámbito de la investigación científica y tecnológica, es de particular relevancia en las ciencias biosanitarias como, por ejemplo, el desarrollo de mejores o nuevas intervenciones diagnósticas, preventivas, curativas o paliativas, y en no menor medida trasladar tales mejoras al conjunto de la población. Es tan importante la ciencia traslacional en biomedicina que su ausencia o fracaso es uno de los factores más determinantes para el freno de la salud pública a cualquier nivel y también de la salud personal. Sin embargo, el problema está, muchas veces, en cuestiones que no tienen nada que ver con la investigación científica. Así, el cardiólogo Victor J. Dzau utiliza el término “valle de la muerte traslacional” (*translational valley of death*) para referirse al vacío por el que los avances en la investigación básica no logran traducirse en una tecnología accesible, debido a las incertidumbres de la puesta en marcha, de la eficiencia y de la demanda del mercado, que están ligadas a la falta de financiación o de retorno económico (4).

Es obvio que esto dificulta o impide que algunos descubrimientos de utilidad sanitaria potencialmente crítica lleguen a las poblaciones más necesitadas. Aunque se han apuntado algunas posibles soluciones, como los *medicamentos huérfanos* para ciertas enfermedades raras mediante estímulos públicos para su investigación, desarrollo y distribución, lo cierto es que, junto con medidas que disminuyan las incertidumbres de carácter económico, la comunidad científica - la académica, en particular - debe intensificar su esfuerzo para mejorar y ampliar las ciencias de la transferencia, tanto en su divulgación como en su desarrollo e implantación práctica. Para ello, se ha propuesto (5) dar prioridad a una mayor au-



tonomía operativa para universidades y centros públicos de investigación, acompañada por rendición de cuentas centrada en resultados, así como una inversión sostenida en capacidades que permitan la conexión entre ciencia y empresa. Todo ello requiere un nuevo pacto entre la ciencia y la sociedad, basado en el entendimiento entre todos los actores del sistema mediante un acuerdo que comprometa a perseguir impactos sociales como contraparte de un apoyo más estable y predecible.

3. RETORNO ECONÓMICO Y SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA A ESCALA MUNDIAL

El retorno económico de la investigación científica y el desarrollo (I+D) ha sido objeto de muy diversos análisis por parte de organizaciones internacionales, como la OCDE. La conclusión general es que la inversión en I+D se traduce en un multiplicador económico positivo, donde cada unidad monetaria invertida genera entre \$1.5 y \$3.0 en crecimiento del PIB, impulsando la productividad, la innovación empresarial y la creación de empleo de alto valor (6).

Para la OCDE, la financiación pública directa (subvenciones o compras públicas) tiene un efecto multiplicador directo en el sector empresarial, de modo que cada unidad monetaria pública invertida suele estimular entre 1,5 y 1,7 unidades en investigación adicional financiada por empresas. Asimismo, los incentivos tributarios reducen los pasivos fiscales de las empresas innovadoras en un promedio del 35%. Sin embargo, como la propia OCDE señala, deben diseñarse cuidadosamente para evitar que las empresas simplemente sustituyan fondos directos por deducciones.

La intensidad investigadora global de los países de la OCDE (gasto en I+D respecto al PIB) rondaba el 2,7 % en 2024 (7), con líderes destacados como Israel (6,8 %) y Corea del Sur (5,1 %), seguidos a bastante distancia por Japón (3,6 %), Suecia (3,6 %), Estados Unidos (3,4 %), Bélgica (3,4 %), Austria (3,3 %), Fin-

landia (3,2 %), Alemania (3,1 %) y Dinamarca (3,0 %); en España era del 1,5%. Por su parte, el gasto total de China en investigación y desarrollo (I+D) representó el 2,7 % de su PIB en 2024, superando la barrera de los 3,6 billones de yuanes (500.000 millones de dólares).

La OCDE indica que los resultados económicos de los países con mayores tasas de gasto en I+D demuestran que la inversión sostenida mitiga los estancamientos económicos y asegura la competitividad a largo plazo (8). Además, el retorno más amplio no solo es comercial, sino que se manifiesta en progreso tecnológico, capital humano y patentes. En definitiva, el retorno económico de la investigación científica se manifiesta como beneficios directos (patentes, *spin-offs* y comercialización de productos), indirectos (transferencia tecnológica e I+D corporativa) y sociales (ahorros en salud y mejora de capital humano).

Los **retornos directos** (y comerciales) se producen a través de la valorización de la propiedad intelectual; es decir, ingresos generados por la concesión de licencias, regalías (*royalties*) y patentes a empresas del sector privado, así como mediante la creación de empresas de base tecnológica (EBT) o *spin-offs* (proyectos, productos o empresas que derivan de otro principal ya existente), la generación de nuevas compañías nacidas en el seno de universidades o centros de investigación para comercializar descubrimientos específicos. Asimismo, se consiguen retornos económicos sustanciales atrayendo inversión extranjera con centros de innovación corporativos, lo que se traduce en inyecciones de capital al tejido empresarial local.

Por su parte, los **retornos indirectos** (y productivos) proviene principalmente de la mejora de la productividad, consecuencia de la optimización basada en la ciencia de los procesos industriales, la reducción de costes operativos y la aceleración de la transformación digital o ecológica. Pero, asimismo, el conocimiento científico básico reduce el riesgo y el coste de la investigación y desarrollo (I+D) que



realizan las propias empresas y cada unidad monetaria invertida en investigación dinamiza a múltiples sectores adyacentes, tales como manufacturación especializada o consultoría.

Finalmente, los **retornos sociales** de la investigación científica proceden esencialmente de la formación de talento especializado (capital humano), induciendo y facultando la formación de profesionales altamente cualificados (investigadores, ingenieros y técnicos) que elevan el valor general del mercado laboral y la competitividad de las empresas que los contratan. En el ámbito específico de la salud pública, la investigación biomédica reduce los costes de los tratamientos, disminuye el absentismo laboral y alarga la esperanza de vida, lo que se traduce en un ahorro neto para los sistemas de salud y el bienestar social. Asimismo, el desarrollo de tecnologías limpias o nuevos materiales evita futuras pérdidas económicas asociadas al cambio climático o la degradación ambiental.

¿Cómo se mide este retorno? Una de las métricas más usadas por los economistas para la toma de decisiones de inversiones a corto plazo es el retorno de inversión (ROI; *return on investment*), mientras que en las inversiones a largo plazo se utilizan otras métricas tales como el *Valor Actual Neto* (VAN) y la *Tasa Interna de Rentabilidad* (TIR). El ROI es frecuentemente empleado en informes de instituciones como la Comisión Europea o la OCDE y mide la rentabilidad de una inversión, calculando el porcentaje de beneficio que se obtiene por cada euro invertido, lo que permite evaluar la eficacia de las inversiones y también orienta decisiones estratégicas para alcanzar objetivos empresariales (9). Sin embargo, el ROI no considera el factor tiempo, tratando igual la ganancia obtenida hoy como la que se obtendrá dentro de diez años; es, tal como se indicó anteriormente, una métrica solo útil para medir la eficiencia de acciones puntuales o a corto plazo. Para medir la rentabilidad de los proyectos científicos a largo plazo se emplean otras métricas económicas como la *Tasa Interna de Retorno* (TIR).

En términos económicos empresariales, la *Tasa Interna de Retorno* (TIR) permite calcular la rentabilidad porcentual que generará un proyecto considerando todos sus futuros flujos económicos y el valor temporal del dinero, comparando objetivamente distintas opciones financieras y de inversión, cada una con sus costes, plazos y beneficios previstos. La TIR traduce todos esos datos en términos de rentabilidad porcentual, lo que permite evaluar la capacidad intrínseca de un proyecto para generar valor por sí mismo. El *Valor Actual Neto* (VAN) calcula el valor monetario total que un proyecto genera, pero a diferencia de la TIR, el resultado se expresa en una cifra absoluta de dinero monetarizado (euros, dólares, etc.).

Actualmente, y después de más de una década de rendimientos decrecientes en I+D farmacéutica, la tendencia cambió en 2024 y continuó en 2025. El 16º análisis anual de la empresa de análisis Deloitte sobre las 20 principales compañías biofarmacéuticas sitúa la TIR proyectada en un 7,0 % para 2025, frente al 5,9 % de 2024, lo que supone la historia de innovación farmacéutica más sólida en una década. No obstante, al considerar específicamente a los agonistas del receptor GLP-1 empleados para tratar la diabetes tipo 2 y que han revolucionado el manejo de la obesidad, la situación es más selectiva ya que si se excluyen estos, la TIR cae al 2,9 %, incluso por debajo de la cifra comparable sin agonistas de GLP-1 del 3,8 % del año anterior (10).

En la investigación científica pública, el TIR se evalúa calculando el impacto socioeconómico frente al presupuesto estatal, de ahí que los estudios económicos suelen evaluar lo que se conoce como *Retorno Social de la Inversión* (RSI) en lugar de la TIR financiera pura, debido a los largos plazos y beneficios intangibles de la ciencia, como la mejora en la salud pública, el avance del conocimiento y la creación de empleo. En este sentido, se estima que la investigación científica pública suele generar una tasa de retorno social estimada entre el 20% y el 60%, que en el caso de la ciencia bá-



sica e investigación fundamental oscila entre el 20% y el 40%, mientras que investigación aplicada y transferencia tecnológica las tasas son más altas, superando a menudo superan el 50% debido al efecto de la comercialización directa de patentes o innovaciones.

4. ESTADOS UNIDOS

El retorno económico de la investigación científica en Estados Unidos se estima en 2.56 \$ de actividad económica por cada dólar invertido en investigación biomédica federal, con retornos históricos que alcanzan el 150% al 300% de la inversión inicial (11). Solo la investigación biomédica financiada por los *National Institutes of Health* (NIH) cataliza más de 94 mil millones \$ anuales en nueva actividad económica a nivel nacional y los fondos federales de investigación sostienen cientos de miles de puestos de trabajo directos e indirectos (las becas del NIH soportan a más de 400.000 empleos anuales). En el sector privado cada dólar invertido públicamente en investigación clínica estimula casi 2.35 \$ en investigación y desarrollo (I+D) por parte de la industria a los pocos años, mientras que en investigación básica puede estimular hasta 8.38 \$ (12).

5. CHINA

El retorno económico de la investigación científica en China se refleja en su rápida transición hacia una superpotencia tecnológica y en su autosuficiencia estratégica. El gasto nacional en Investigación y Desarrollo (I+D) superó los 3,92 billones de yuanes (unos 569.000 millones de dólares) en 2024, lo que representa un retorno masivo en patentes, exportaciones de alto valor y productividad (13).

Sin embargo, no existe una única Tasa Interna de Retorno (TIR) a nivel macroeconómico para la inversión pública en ciencia en China, ya que el cálculo varía drásticamente por sector, tecnología y si el retorno es privado o social. Como alternativa se calcula la *Tasa Social de Retorno* (TSR) de la investigación bá-

sica y aplicada a nivel global suele oscilar entre el 50 % y el 100 %.

Se han destacado diferentes indicadores para justificar el éxito de esta inversión. El primero es el dominio en patentes y publicaciones; ya en 2019 China superó a Estados Unidos en su porcentaje de artículos más citados (el 1% superior) y en 2022 alcanzó el primer puesto a nivel mundial en cuanto a artículos más citados en general. En 2024, China superó a Estados Unidos en el total de publicaciones científicas, siendo la primera vez que una nación desbanca el dominio estadounidense desde que éste superara al Reino Unido en 1948; en ese mismo año de 2024, China se puso a la cabeza en el *Nature Index*, que registra las publicaciones en las revistas científicas más selectivas del mundo, con una ventaja del 17 % sobre Estados Unidos en publicaciones consideradas como referentes de la excelencia científica. También en 2024, las entidades chinas presentaron aproximadamente 1,8 millones de solicitudes de patentes, tres veces más que las 603.191 de Estados Unidos (14).

Asimismo, China muestra un fuerte liderazgo en sectores de vanguardia; en concreto, la investigación aplicada ha generado retornos billonarios en sectores estratégicos como la inteligencia artificial, vehículos de nueva energía (NEV), robótica humanoide y biotecnología (15). De hecho, los estudios macroeconómicos sobre el mercado chino estiman que un aumento sostenido en I+D impulsa directamente el crecimiento de la *Productividad Total de los Factores* (PTF), el indicador que mide la eficiencia con la que el trabajo y el capital se combinan para producir bienes y servicios, actuando como el principal motor de la competitividad industrial del país (13). Alrededor del 75% del total de la inversión en I+D proviene del sector corporativo, lo que garantiza una transferencia tecnológica rápida desde el laboratorio hasta la comercialización y fabricación de productos.

6. UNIÓN EUROPEA



Por cada euro que la Unión Europea invierte en su programa marco de investigación, se generan hasta 11 euros en crecimiento del PIB a largo plazo y 6 euros en valor social. Además, cada euro inyectado en empresas innovadoras atrae más de 3 euros adicionales procedentes de inversores privados (16). A mitad de su marco presupuestario, el programa insignia de la UE, el programa *Horizonte Europa* (*Horizon Europe*) ha financiado más de 15.000 proyectos y respaldado más de 30 premios Nobel en las últimas cuatro décadas. Según la propia Comisión Europea, el 80 % de los proyectos del Consejo Europeo de Investigación logran avances revolucionarios.

En 2024, las empresas con sede en la UE registraron una inversión total en I+D de 233.800 millones de euros, destacando especialmente los retornos en sectores donde Europa lidera el crecimiento de la inversión a nivel mundial, como el sector de la salud con un incremento de sus inversiones en I+D del 13%, superando a otras regiones como Estados Unidos (7,1 %), Japón (9,1 %) y China (0,1 %). De igual modo, el sector energético de la UE, especialmente las empresas centradas en la electricidad y las energías renovables, experimentó un aumento del 19,8 %, superando a competidores globales como Estados Unidos (6 %), Japón (-14,2 %) y China (3,8 %).

En general, la intensidad inversora en la UE se sitúa en el 2,24 % de su PIB, lo que equivale a más de 400.000 millones de euros anuales. No obstante, este esfuerzo combinado sigue estando un 34% por detrás de las cifras de Estados Unidos y China, lo que ha motivado paquetes extraordinarios como los 500 millones de euros para el periodo 2025-2027 orientados a consolidar a Europa como polo global de atracción de talento (18).

En el caso concreto de **España**, el retorno económico de la investigación científica se sitúa en un multiplicador estimado de 1,2 a 3 euros por cada euro invertido, impulsando un sector que registró un máximo histórico de gasto en I+D de 23.931 millones de euros (el

1,5% del PIB) en 2023, a través de la creación de empleo de alto valor y el aumento de la productividad. Sin embargo, la inversión global y el retorno de la ciencia básica se ven limitados porque el esfuerzo nacional sigue por debajo (1,5 vs 2,3 % del PIB) de la media de la Unión Europea (19).

En su informe de 2025, la Fundación CYD (21) indica que España destaca por su alto rendimiento en la captación de fondos de investigación europeos, obteniendo retornos netos positivos que compensan parte de la inversión nacional. Por primera vez, el sector empresarial lidera tanto el origen como la ejecución de los fondos de I+D en España, financiando casi la mitad del total invertido. Este factor acelera el retorno, ya que el tejido privado conecta directamente la investigación con la comercialización de patentes y productos (20). Sin embargo, el retorno económico y el gasto se concentran fuertemente en unas pocas comunidades, en especial País Vasco (2,4 % de inversión sobre su PIB regional), Madrid (2,1 %) y Cataluña (1,9 %), liderando la innovación y la transferencia tecnológica del país. Las universidades públicas siguen siendo las principales impulsoras del gasto en I+D, con el 87,9% del total. En 2023, las empresas destinaron 298,9 millones de euros a financiar I+D universitaria, una cifra que encadena tres años de crecimiento sostenido. Por tipo de universidad, las públicas recibieron 221,3 millones de euros y las privadas 51,9 millones de euros.

El aumento de recursos en la I+D se ha traducido en un crecimiento del empleo en I+D, superando los 282.400 profesionales a jornada completa en 2023, un 25 % más respecto a 2018. A nivel global, las mujeres representan el 41 % del personal de I+D, aunque con una distribución muy desigual, ya que en la Administración Pública alcanzan el 54 % y en la enseñanza superior el 47 %, mientras que en el sector empresarial privado solo suponen el 32 %. En 2024 España mantenía una sólida contribución a la ciencia global, generando en torno al 2,9 % de la producción mundial y el 4,3% de



la OCDE, destacando por ser líder en publicaciones en acceso abierto (70 %), y su contribución a la investigación relacionada con los Objetivos de Desarrollo Sostenible supera a la media de la OCDE (33%).

España mantuvo en 2024 el noveno puesto mundial por el volumen de producción de publicaciones científicas y el número de publicaciones generadas en nuestro país alcanzó los 126.393 documentos, siendo el número de documentos citables de 115.233, que obtuvieron en total 131.281 citas. El ranking absoluto fue liderado por China, Estados Unidos, India y el Reino Unido. A nivel de la Unión Europea, España ocupa el tercer lugar por detrás de Alemania e Italia (quinta y sexta en el ranking mundial) y por delante de Francia. Y en el histórico mundial registrado desde el año 1996, ocupa el puesto 11 superando la barrera de los dos millones de publicaciones, con 1,94 millones de documentos que fueron citados hasta 2024 en más de 5,2 millones de ocasiones (22).

7. GRAN BRETAÑA

Tras su salida de la Unión Europea, Gran Bretaña se ha encontrado con problemas importantes de financiación de la investigación científica, tanto pública como privada. Durante la primera mitad del siglo XX, el Reino Unido dominó en el *ranking* de publicaciones científicas, siendo desplazada desde entonces (1948) por Estados Unidos y, desde 2024, China ha tomado la primera posición; actualmente, Gran Bretaña ocupa la cuarta posición, tras India.

El gasto interno bruto en I+D en el Reino Unido se situó en aproximadamente el 2,9% de su PIB en 2024, superando ampliamente la media de la Unión Europea (2,2 %), invirtiendo 76.000 millones de libras esterlinas £ (88.200 millones €) en total entre sector público y privado, si bien los 27 países de la UE sumaron una inversión conjunta de 403.100 millones €. El gasto realizado únicamente por empresas del Reino Unido alcanzó los 55.600 millones £ mientras que la inversión pública fue de

20.400 millones £ (23.700 millones €). Según *UK Research and Innovation* (23), cada libra esterlina de inversión pública en I+D en Gran Bretaña genera 2 libras esterlinas de inversión privada y 7 libras esterlinas en beneficios económicos a través de avances en habilidades, bienes y servicios. *UK Research and Innovation* (UKRI) es el principal financiador público de I+D, que abarca todas las disciplinas y sectores y aporta el 84 % de la inversión pública del sistema de I+D del Reino Unido.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología. (2025). Encuesta de percepción social de la ciencia y la tecnología en España (EPSCT) 2024. <https://doi.org/10.58121/90E2-ME77>
2. American Medical Informatics Association (AMIA). Informatics Professionals Meet in DC at AMIA's 35th Annual Symposium 24-Oct-2011. <https://www.newswise.com/articles/informatics-professionals-meet-in-dc-at-amia-s-35th-annual-symposium>
3. Cuéllar Rodríguez S. Epistemología de la medición (Epistemology of measurement). *An Real Acad Farm.* 2022; 88(1): 31-44. DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.01.02>
4. Dzau VJ. The war on heart failure. 8 Dec 2021. <https://www.youtube.com/watch?v=WxW5eimMrZo&t=349s>
5. OECD. Improving Knowledge Transfer and Collaboration between Science and Business in Spain. 2022. https://www.oecd.org/content/dam/oecd/es/publications/reports/2021/12/improving-knowledge-transfer-and-collaboration-between-science-and-business-in-spain_a3d74d85/106beefc-es.pdf
6. Guellec D, van Pottelsberghe de la Potterie B. The Impact of Public R&D Expenditure on Business R&D, "OECD Science, Technology and Industry Working Papers", No. 2000/04, OECD Publishing, Paris (2000) <https://doi.org/10.1787/670385851815>
7. OECD. Gross domestic spending on R&D in 2024. <https://www.oecd.org/es/data/indicators/gross-domestic-spending-on-r-d.html>



8. OECD. OECD records R&D spending increase and outlines priorities for the future. (2023) <https://cordis.europa.eu/article/id/23137-oecd-records-rd-spending-increase-and-outlines-priorities-for-the-future>
9. Batllori Lloveras G. Qué es y cómo se calcula el ROI o Retorno de Inversión. 28 noviembre 2024. <https://www.esade.edu/beyond/es/roi-retorno-de-la-inversion/>
10. Panda. Pharmaceutical R&D returns in 2026: How innovation is measured and how it's reshaping hiring. 26th May, 2026. <https://www.panda-int.com/insights/measuring-the-return-from-pharmaceutical-innovation-a-guide-for-eu-readers/>
11. The Science Coalition. The Science Coalition Releases 2025 Sparking American Economic Growth Report. April 29, 2025. <https://www.sciencecoalition.org/2025/04/29/sparking-american-economic-growth/>
12. The Harvard Gazette. NIH funding delivers exponential economic returns. March 11, 2025 <https://news.harvard.edu/gazette/story/2025/03/nih-funding-delivers-exponential-economic-returns/>
13. Zhou Y, Dahal S. Has R&D contributed to productivity growth in China? The role of basic, applied and experimental R&D. *China Economic Review*, 2024; 88: 102281. <https://doi.org/10.1016/j.chieco.2024.102281>
14. Wagner C. China surpasses US in research spending. The Ohio State University. Apr 30, 2026. <https://news.osu.edu/china-surpasses-us-in-research-spending/>
15. European Commission. China's R&D strategy. https://knowledge4policy.ec.europa.eu/foresight/topic/expanding-influence-east-south/industry-science-innovation_en
16. European Commission. For every euro invested Horizon Europe generates up to €11 in economic gains. Apr 30, 2025. https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_25_1115
17. European Commission. Health and energy sectors drive R&D investment growth in the EU amid overall slowdown. 22 December 2025. https://joint-research-centre.ec.europa.eu/jrc-news-and-updates/2025-eu-industrial-rd-investment-scoreboard-2025-12-22_en
18. European Commission. R&D expenditure. November 2025. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=R%26D_expenditure
19. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de España (RAC). Declaración sobre la financiación y gestión de la investigación científica en España - 2025. Desafíos de la ciencia española ante los retos del conocimiento globalizado. <https://rac.es/ficheros/doc/30ad058e15a83f1f.pdf>
20. Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. España realiza el mayor esfuerzo presupuestario en I+D+I de la historia, según el informe de seguimiento 2024 de la Estrategia Española de Ciencia, Tecnología e Innovación 2021-2027. <https://www.ciencia.gob.es/Noticias/2025/julio/EECTI-informe-seguimiento-2024-datos.html>
21. Fundación CYD. Informe CYD 2025: ¿Cuál es la situación de la I+D en España y la aportación de la universidad a la producción científica? <https://www.fundacioncyd.org/publicaciones-cyd/informe-cyd-2025/>
22. IDEX. España se consolida en el Top 10 mundial de publicaciones científicas. 16/07/2025. <https://www.investinspain.org/es/noticias/2025/sjr>
23. UK Research and Innovation. UKRI corporate plan update 2025 to 2027. 25 November 2025. <https://www.ukri.org/publications/uk-research-and-innovation-corporate-plan-update-2025-to-2027/ukri-corporate-plan-update-2025-to-2027>

Si desea citar nuestro artículo:

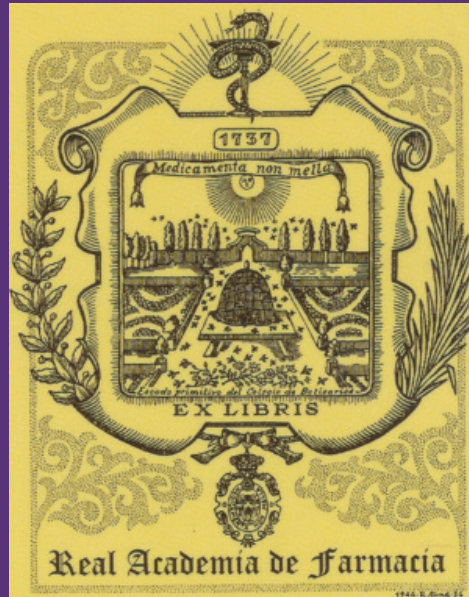
El retorno económico y social de la inversión en investigación científica

Santiago Cuéllar Rodríguez

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 92. nº 1 (2026) · pp. 241-250

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2026.92.02.07>



MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES

