

ANALES
DE LA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

AÑO 2005 - TOMO CXXII

CUADERNO SEGUNDO

SESIONES CIENTÍFICAS

SESIÓN NECROLÓGICA



Edita: REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

Depósito Legal: M. 5.020.—1958
I.S.S.N. 0034-0634

Fotocomposición e impresión: Taravilla. Mesón de Paños, 6 - 28013 Madrid

VI SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 8 DE MARZO DE 2005

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

HISTORIA NATURAL DE LA INFLUENZA AVIAR O «GRIPE DEL POLLO». ANÁLISIS SANITARIO ACTUAL Y PROSPECTIVO

NATURAL HISTORY OF AVIAN INFLUENZA OR «CHICKEN FLU». PRESENT AND FUTURE HEALTH ANALYSIS

Por el Excmo. Sr. D. GUILLERMO SUÁREZ FERNÁNDEZ

Académico de Número

Resumen

Se ha hecho una revisión y puesta al día sobre una zoonosis de gran actualidad y nuevo cuño como es la Influenza Aviar o “gripe del pollo” que se ha convertido en endémica en el Sudeste de Asia y actualmente sigue activa en Vietnam y Tailandia. Partiendo de la Historia Natural de la Influenza Aviar, con estudio especial de las últimas epidemias a partir del año 1997 en Hong Kong, en que el Orthomyxovirus tipo A, agente de la enfermedad aviar, logra superar la barrera interespecie, especialmente con el subtipo H5N1, se realiza un análisis de carácter sanitario, actual y de futuro, acerca de la posibilidad de la aparición de una nueva pandemia gripal producida por el Orthomyxovirus tipo A, subtipo H5N1 agente de la Influenza Aviar, de elevada patogenicidad para el hombre. El hecho más favorable, entre otros, a desmerecer la posibilidad de una pandemia próxima o futura, es que la estirpe patógena en cuestión no ha mutado ni en la epidemia de Hong Kong ni en la actual del Sudeste de Asia.

Abstract

A review and update about a new zoonosis, as it is the Avian Influenza or "poultry gripe" has been made. This disease is endemic in the Southeast of Asia and continues at present time, being active in Vietnam and Thailand. We have considered the Natural History of the Avian Influenza and specifically the late epidemics, starting from the one in 1997 in Hong Kong, in which an Orthomyxovirus type A, subtype H5N1, broke the interespecies barrier. A health analysis is made, both for the present moment and the future, about the possibility of a World pandemic flu, originated by the mentioned Orthomyxovirus type A, agent of the Avian Influenza of highly virulent specific virus strain pathogenic for men. The most favourable fact, among others, to deny the possibility of a future pandemic flu is the stability of H5N1 strain in both epidemics of poultry in Hong Kong and in the Southeast of Asia.

INTRODUCCIÓN

Queremos recordar que el 31 de marzo de 2004 tuvo lugar, en este mismo foro, una Sesión Científica o Simposio, sobre el Síndrome Respiratorio Agudo y Grave y Gripe Aviar. Esta reunión científica fue auspiciada por las Reales Academias Nacionales de Medicina y Farmacia, el Instituto de Salud Carlos III y el Ministerio de Sanidad y Consumo.

Anteriormente, el 26 de febrero de 2004, había tenido lugar una Mesa Redonda sobre Influenza Aviar, exclusivamente, y que tuvimos el honor de presidir y moderar, en el Salón de Actos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense.

En esta ocasión se había excluido, en principio, el Síndrome Respiratorio y Agudo (SARS, acrónimo para el nombre en inglés). La epidemia tuvo su origen en China en Noviembre de 2002, extendiéndose rápidamente por el sudeste asiático hasta contabilizar unos 8000 casos, con una letalidad del diez por ciento para la población humana.

Esta enfermedad, producida por un coronavirus, era muy conocida en el mundo ganadero como agente infeccioso de diversas enfermedades animales, pero desconocida en el hombre hasta el año 2002. En el 2004 representaba ya un brillante ejemplo del éxito obtenido en menos de seis meses, para controlar una epidemia, bien conocida hoy, pero no cuando fue denunciada. En este éxito en el control de la enfermedad no es ajeno el conocimiento de los reservorios de la enfermedad, entre los que destaca la civeta (*Viverra civetta*), responsable, con toda probabilidad, del foco chino.

Se consideró, en cambio, que la Influenza Aviar o «gripe del pollo» suponía un salto de la barrera de especie acompañado de un claro incremento de la virulencia para el hombre en estirpes del virus influenza A de los subtipos H5 y H7, en especial de la cepa H5N1.

EPIDEMIOLOGÍA

Hoy en día, el temor a una pandemia humana originada por el virus de la Influenza Aviar tipo A ha aumentado considerablemente, a nivel popular principalmente, ante las advertencias de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que teme entre 2 y 7 millones de muertos por una pandemia de gripe, con probable contagio entre personas, de la «gripe del pollo». La mortalidad anual, a nivel mundial, de la gripe humana normal se cifra entre 250.000 y 500.000 personas.

Según Stohr, coordinador del programa de la OMS para la contención del virus de la gripe, es imposible conocer si la próxima pandemia tendrá lugar dentro de unos años o en la semana próxima y de la misma manera que se cuantifica el posible número de bajas se prevé una cifra de afectados de miles de millones de personas, dado que del 25 al 30 por ciento caerán enfermos.

Heymann, responsable del Departamento de enfermedades infectocontagiosas de la OMS, confirma y avala el riesgo elevado de una pandemia de gripe para la que, por ahora, no estamos preparados. La Influenza, Gripe o Peste Aviar fue descrita por primera vez en Italia en 1878 por Perroncito como una enfermedad de las aves, extremadamente grave y de elevado índice de letalidad. No se conocía todavía el papel infeccioso de los virus, cuya función sería descubierta veinte años más tarde por Iwanowski, y la nueva entidad infectocontagiosa fue denominada «typhus exudativus gallinarum» por Rivolta y DelPrato en 1880. La naturaleza vírica de la enfermedad fue descrita por Centanni en 1901 y 1902, demostrando que el agente etiológico atravesaba los filtros de Chamberland capaces de retener a las bacterias.

Durante algún tiempo, un cuarto de siglo aproximadamente, se admitió, sin ninguna duda, que la Peste Aviar era causada por un tipo único de virus. Pero desde que Kraneweld (1926) y Kard (1928) estudiaran brotes epizooticos en las Indias holandesas, y sobre todo

Doyle (1927) en Inglaterra en las proximidades de Newcastle, cuyos agentes etiológicos se diferenciaban del virus conocido hasta entonces en Europa, con un distinto comportamiento patogénico e inmunobiológico, aparecen dos teorías contrapuestas. Según una de ellas, que es la cierta, se trataría de dos procesos patológicos independientes, la Peste Aviar Clásica o Europea, y la conocida como enfermedad de Newcastle, de origen asiático. Según otros investigadores, se trataría de un solo tipo de Peste Aviar, si bien el virus causante podría presentarse con características inmunobiológicas distintas, lo que era falso. El hecho es que la discusión entre las teorías unicista y dualista continuó hasta los años cuarenta del pasado siglo, en los que el conocimiento virológico avanza decididamente.

Desde entonces se sabe que la Peste Aviar y la Enfermedad de Newcastle son dos infecciones víricas distintas y sin relación alguna. Sin embargo, en Inglaterra en donde ha venido prevaleciendo la Enfermedad de Newcastle el término «fowl pest» o PA se ha usado como sinónimo de la Enfermedad de Newcastle, y si bien en el Acta de Enfermedades de los Animales del Reino Unido ambos procesos están reconocidos como dos entidades nosogénicas independientes, lo cierto es que ambas se incluyeron bajo el término «fowl pest» o Peste por razones legales y administrativas, en relación con las medidas de lucha y erradicación de ambas enfermedades.

Este confusionismo afectó a países como Inglaterra, Italia, Francia y España. En las décadas de los años cuarenta y cincuenta del siglo XX en España se hablaba de Peste Aviar, como grave problema para la industria avícola española, de las vacunas vivas, atenuadas o adsorbidas y formoladas para prevenir la enfermedad, cuando en realidad se trataba de la Enfermedad de Newcastle, producida por un Paramyxovirus y no de la verdadera PA, descrita por Perroncito a finales del siglo XIX, producida por un Orthomyxovirus del tipo A, desconocida en España.

La Enfermedad de Newcastle no es transmisible al hombre, aunque e han descrito algunos procesos menores de conjuntivitis en los años cuarenta en España por Sánchez Franco y colaboradores.

Por lo que se refiere a la Peste Aviar clásica o europea, no se consideraba zoonosis hasta 1997, año en que se diagnostica un brote humano de Influenza Aviar en Hong Kong, producido por un virus Influenza A subtipo H5N1 que afectó a 18 personas de las que fallecieron 6.

¿Dónde está la causa de esta repentina ruptura de la barrera

interespecie? ¿En la hibidación de un virus del ganso con uno de la codorniz?, tal y como aseguran Kraus y colaboradores, ¿en la reagrupación y reordenamiento de fracciones genéticas propias de la estirpe vírica? No lo sabemos a ciencia cierta, pero el hecho de superar la barrera de especie e incrementar la virulencia para el hombre es un hecho contrastado. Independientemente de la estirpe H5N1, de elevada patogenicidad, responsable de los recientes focos asiáticos de Influenza Aviar en el hombre, existen cepas de baja patogenicidad como H7N7 y H9N2 que se han aislado repetidamente de casos leves de gripe humana, acompañados o no de una conjuntivitis autolimitada.

Con respecto a la Historia de la Influenza Aviar o Peste Clásica de origen europeo diremos que a lo largo del siglo XX se extendió por todo el mundo con focos en el Reino Unido denunciados en 1922, 1929 y 1963, también en EE.UU, 1924-1925 y 1929, de donde fue erradicada definitivamente. A comienzos del siglo XX la enfermedad era enzootica en países del este de Europa, Austria, Hungría, Rumania, Bulgaria y Yugoslavia, extendiéndose hacia Alemania y Polonia, así como a países del Norte de África y a Oriente Medio.

Desde 1959 hasta el 2005 se han declarado en el mundo 22 brotes de Gripe Aviar producidos por virus Influenza de elevada patogenicidad (High Pathogenic Avian Influenza o HPAI). La mayoría de estos brotes tuvieron lugar en Europa y América y únicamente 7 de ellos originaron una elevada tasa de infección en las granjas avícolas, en Pensilvania 1983, Méjico 1994, Pakistán 1994, Hong Kong 1997, Italia 1999, Holanda 2003, y Sudeste de Asia 2003.

En la actualidad la gripe se ha convertido en una enfermedad endémica en el sudeste asiático y los focos más importantes se hallan en Tailandia y Vietnam.

La Historia Natural de la enfermedad conocida vulgarmente como «gripe del pollo» nos demuestra la facilidad de difusión del virus y esto, unido a la posibilidad de hibridación con el virus de la gripe humana, con la reordenación genética de segmentos cromosómicos, o la simple transmisión entre personas, estudiada por la OMS en un caso de tres hermanos (dos mujeres y un hombre) en el foco epidémico que está activo en el Vietnam, serían signos que harían bueno el peyorativo presagio de la OMS, que vaticina una próxima, o no tan próxima, pandemia de gripe humana con un número de bajas que alcanzaría varios millones a nivel mundial, con una morbilidad que podría afectar a miles de millones de enfermos.

Este pesimismo se apoya en un incremento de la virulencia para el hombre con letalidad creciente de 33 por ciento en Hong Kong 1997, a 75 por ciento en Vietnam 2003. Razones para ser un poco más optimista serían que la estructura genética de las estirpes de Orthomyxovirus A subtipo H5N1 de la «gripe del pollo» no han mutado desde su aparición en la epidemia de Hong Kong en 1997 ni en la actual del sudeste de Asia, aparecida en diciembre de 2003. El análisis de la estructura genética del virus H5N1 parece prevenir, en teoría, la transmisión de persona a persona, al contrario de lo que sucede con el virus de la gripe porcina, que el virus todavía no está adaptado a la especie humana y no cabría esperar una pandemia próxima, por este motivo, al irse debilitando su potencial patógeno en cada pase por el hombre, que el conocimiento de los reservorios primordiales de los Orthomyxovirus, las aves migratorias acuáticas, de sus rutas y hábitos, permitirá un mejor control y prevención en la presentación de nuevos focos de infección, sin olvidar la fundada esperanza puesta en la investigación de nuevas vacunas antigripales, a las que sin duda contribuirá la secuenciación de la variante H5N1 del virus de la gripe del pollo, recientemente lograda. También parece probado que el salto interespecie requiere un estrecho y continuado contacto de las aves infectadas con el hombre, siendo este un paso con posibilidades de control.

La historia de las grandes epidemias humanas de gripe nos señalan tres o cuatro cada 100 años y, si bien algunos epidemiólogos manifiestan que no hay razón para pensar que nos libremos de ellas, otros por el contrario confían en llegar a controlar eficazmente o en alguna medida, las temidas pandemias. La secuenciación del genoma del pollo, por una parte, y de los segmentos genéticos que codifican para los antígenos H5N1 del virus de la Influenza Aviar por la otra, son aportaciones científicas esperanzadoras.

Las redes de alerta a nivel mundial, los laboratorios de alta seguridad, estratégicamente distribuidos en los diferentes continentes, los constantes avances en Ciencia y Técnica, la informática aplicada a la epidemiología, la ingeniería genética utilizada en la fabricación de vacunas son, todos ellos, factores de que no se disponía, por ejemplo, en la pandemia gripal de 1918, impropriadamente bautizada como «gripe española».

De otro lado, la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Oficina Panamericana de la Salud (OPS), dependiente de la anterior, la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), organización oficial de

carácter internacional, para la Sanidad Animal y normativa sanitaria, auspiciada por la Organización de Comercio Mundial (WTO, acrónimo de las siglas en inglés), son organismos que velan por la aplicación de la normativa sanitaria, a escala mundial y que merecen toda nuestra confianza.

ETIOPATOGENIA DE LA INFLUENZA AVIAR

El agente productor de la Influenza Aviar es un Orthomyxovirus del tipo A con varios subtipos determinados por la combinación de dos glicoproteínas superficiales, la hemoaglutinina (HA), con 15 variantes antigénicas y la neuroaminidasa (NA) que dispone de 9 subtipos. En las epidemias de gripe aviar de Hong Kong (1997) y sudeste de Asia (2003), que persiste en Vietnam y Tailandia, se ha identificado el mismo subtipo H5N1, aunque la estirpe no sea la misma en los dos focos. Ninguna de las dos han experimentado algún tipo de cambio por el momento. Los Orthomyxovirus tipo A presentan aspecto pleomórfico al microscopio electrónico, tendiendo a la esfericidad, con un tamaño de 90-100 nm. Poseen una envoltura lipídica que pertenece a la célula infectada, en la que se insertan los antígenos de superficie HA y NA, protegiendo al genoma de ARN (RNA) monocatenario, de polaridad negativa, fragmentado en 8 segmentos génicos que codifican para 10 proteínas, de las que la HA, NA y M2, por su enclave superficial en el virión y su carácter antigénico, condicionan con preferencia la relación virus-hospedador, así como la capacidad infecciosa del virus.

Estructuralmente los virus de la Influenza Aviar están constituidos por dos tipos de componentes proteicos, los antígenos internos, M1, NP y las polimerasas que con el ARN conforman la cápsida vírica.

Investigando con virus aviares de alta y baja patogenicidad se ha podido demostrar que el gen que codifica para la HA es el determinante de la virulencia de una cepa. Estudios recientes han comprobado que el grado de patogenicidad en los virus gripales es un fenómeno poligénico, en el que intervienen también, junto al del HA, otros genes como el que codifica a la proteína NS o el de la polimerasa PB2.

Se ha comprobado que los virus aviares con baja patogenicidad, tras numerosos pases en las aves domésticas, pueden mutar y conver-

tirse en virus de alta patogenicidad, como se ha demostrado en los brotes de Italia de 1999 a 2001 producido por el subtipo H7N1 y en USA de 1983 a 1984 en que el subtipo H5N2 fue el responsable.

En el caso de Italia, el virus se convirtió en altamente patógeno en 9 meses y en el de los EE.UU. tardó solamente 6 meses.

La mayoría de las infecciones aviares por Orthomyxovirus tipo A (subtipos H1 a H15) son enfermedades subclínicas o de escasa virulencia, pero un pequeño porcentaje de subtipos H5 y H7 inducen enfermedades graves de elevada mortalidad aviar y estas estirpes se denominan de alta virulencia o patogenicidad.

La elevada patogenicidad de algunas cepas H5 y N7 para las aves, no guarda relación con la posibilidad de infectar y producir enfermedad en la población humana. En otras palabras, el grado de virulencia en las aves no es indicativo para la patogenicidad en el hombre.

MODIFICACIONES GENÉTICAS EN LOS VIRUS INFLUENZA

Los Orthomyxovirus disponen de una doble vía de variación antigénica, la *deriva antigénica* que refleja modificaciones antigénicas menores que afectan a la hemoaglutinina (HA), neuraminidasa (NA) o a las dos, y una *variación antigénica mayor* que significa la aparición de nuevos antígenos de superficie, sin relación o lejanamente emparentados con las cepas antiguas, debido a una reorganización o reordenación genética.

Las modificaciones antigénicas menor y mayor han sido bien estudiadas en la gripe humana con motivo de las grandes pandemias del siglo XX con carácter retrospectivo mediante el estudio inmunológico en suero de personas de diferentes edades y en los propios virus aislados. Así se sabe que un virus H2 fue el responsable de la gran epidemia de 1890, en tanto que la epidemia de 1900 fue causada por un virus H3, y las infecciones humanas entre 1918 y 1929 fueron originadas por virus semejante al de la gripe porcina, subtipo H1N1 del virus A de la gripe humana. Otras variaciones antigénicas mayores han tenido lugar en 1933 (H1N1), y en 1957 (H2N2, asiático).

Entre las variaciones mayores y menores pueden existir situaciones intermedias, debidas a simples mutaciones puntuales que se añaden a las variaciones mayor y menor.

La constante variación antigénica de los virus gripales tiene gran interés teórico como modelo de estudio y su mejor conocimiento resulta esencial en las prácticas preventivas mediante el uso de vacunas.

La *variación genética mayor* deja a la población mundial indefensa, desde el punto de vista inmunológico, en caso de pandemia, contra la variante antigénica origen de la infección generalizada en la población humana a nivel mundial

Por el contrario, las *variaciones antigénicas menores* o deriva genética, que son las más frecuentes entre pandemias, pueden reducir el grado de eficacia vacunal, pero no anula totalmente su efecto inmunitario de protección.

La variación antigénica mayor no puede explicarse por una simple mutación sino que se debe a una reordenación genética integral o bien a una recombinación y reagrupación de genes entre una cepa humana y una animal que hibridan al infectar ambas la misma célula.

RESERVORIOS PRIMORDIALES Y NUEVOS ECOSISTEMAS DE LOS ORTHOMYXOVIRUS TIPO A

Los limitados estudios sobre los distintos tipos de reservorios primordiales de la fauna silvestre para los virus influenza tipo A, conducen a las aves migratorias de los órdenes Anseriformes (patos, gansos, cisnes, y ocas, entre otros) y Charadriiformes (gaviotas, chorlitos, avefrías, andarríos, gritones, agachadizas, alcaravanes, alcas, etc).

El interminable número de familias, subfamilias, géneros y especies que se encuadran en estos órdenes de aves silvestres migratorias, hacen irrealizable la tarea de investigar y cuantificar el peligro que puedan significar cada una como origen de un contagio epidémico.

Los virus influenza tipo A son endémicos y causa de frecuente enfermedad en el hombre, caballo, cerdo y diversas especies de aves industriales y pueden ocasionar infecciones esporádicas naturales en mustélidos y varios mamíferos marinos. Por vía experimental se infectan fácilmente roedores, carnívoros y ruminantes pero éstos no son propiamente reservorios de la enfermedad y ni siquiera vectores biológicos de transmisión de virus influenza A en las especies que experimentan la influenza endémica.

En las especies acuáticas de los Órdenes Anseriformes y Charadriiformes se han encontrado todas las combinaciones posibles de 15 subtipos de hemoaglutininas (HA) y 9 de neuraminidasa (NA) coincidiendo con infecciones subclínicas o inaparentes y, por ello, son consideradas como el reservorio primordial o primitivo de los virus influenza tipo A.

Sin embargo, los ancestros salvajes de las aves domésticas, no acuáticas, del Orden Galliformes, no son hospedadores naturales de los virus influenza tipo A. Es el hombre quien a través de la cautividad y la domesticación, la agricultura industrial, y la avicultura intensiva ha creado nuevos nichos ecológicos y nuevos ecosistemas.

La selección genética de las aves orientada a una mayor producción y beneficio ha significado una menor resistencia orgánica, por «estrés», para la infección en las poblaciones aviares. Nos hemos olvidado de seleccionar también paralelamente y por vía genética frente a la resistencia a la enfermedad infecciosa causa principal de pérdidas en la industria avícola actual.

El papel de las aves acuáticas silvestres de los órdenes Anseriformes y Charadriiformes como reservorios primordiales de la enfermedad se une al papel del cerdo del que se ha dicho que «*Es un «mixing vessel», o coctelera, para coinfección por virus influenza de aves y mamíferos, con reagrupamiento de segmentos genómicos y formación de estirpes híbridas con capacidad de infectar a otros animales y a las personas*». El cerdo doméstico se ha imputado como causa de algunas de las pandemias gripales más severas que ha padecido la humanidad como son la de 1918 y 1929. Sin embargo, en un sentido estricto, no es un reservorio primordial como lo son las aves acuáticas migratorias.

ANÁLISIS SANITARIO ACTUAL Y PROSPECTIVO

El temor a una nueva pandemia en la población mundial es un temor creciente afianzado por las declaraciones de la OMS, avaladas por destacados especialistas de la propia Organización como Stohr o Haymann, sobre la posibilidad de una pandemia producida por la «gripe del pollo», altamente patógena para el hombre, que podría tener lugar de forma inmediata o a medio plazo. Ahora bien, para que esto suceda debe probarse la transmisión de persona a persona, sobre cuyo lance existen fundadas dudas. El segundo ries-

go que aparece en el horizonte se basa en que las cepas de elevada virulencia en la Influenza Aviar son excelentes agentes potenciales de agrobioterrorismo. El vaticinio de una pandemia con un amplio intervalo de millones de bajas y una elevada morbilidad que llegaría a miles de millones de enfermos nos parece excesivamente arriesgado.

El tomar como base las tres o cuatro pandemias por siglo que ha venido padeciendo la humanidad es mitificar a los mixovirus como agentes patógenos todopoderosos, contra los que no es posible luchar. Es cierto que el problema de los reservorios es grave por tratarse de aves migratorias cuyo control es difícil y su limitación conduciría a un desastre ecológico.

Es cierto que el cerdo, base del desarrollo y progreso de las industrias de la carne, es un buen hospedador y mezclador de estirpes de virus influenza para generar cepas híbridas nuevas para las que el hombre queda desprotegido. Es cierto el salto reciente o ruptura de la barrera interespecie del virus de la Influenza Aviar. Pero no es menos cierto que en las grandes pandemias del siglo XX no existían los medios informáticos de hoy en día, con el apoyo que esto supone para la epidemiología, ni la red mundial de laboratorios de alta seguridad, entre los que destaca el de Valdeolmos, que alcanza el nivel 4 de seguridad biológica y viene a confirmar junto al Instituto Carlos III el destacado papel de la Península Ibérica como filtro o barrera de las enfermedades infecciosas que vienen del Sur hacia Europa.

El eficaz papel que viene desempeñando la OMS, OPS, IE, WTO no existía en el siglo anterior y tampoco los avances científicos como en genética pura (secuenciación del genoma del pollo) y secuenciación vírica del gen que codifica para la hemoaglutinina y neuraminidasa de la estirpe H5N1, de alta patogenicidad y responsable de la actual epidemia de Influenza Aviar en el Sudeste de Asia, o de Ingeniería Genética aplicada a la obtención de vacunas.

El hecho de que el contagio del hombre por las aves enfermas de Influenza Aviar necesite de un contacto intenso y prolongado es un buen augurio, como también lo es que el virus necesita adaptarse al hombre para que no descienda la patogenicidad en cada ciclo de infección y contagio humano. Pero el hecho más significativo y sólidamente favorable sería el que la estirpe H5N1 no ha mutado ni en la epidemia de Hong Kong ni en la actual de Vietnam.

Es más el potencial riesgo pandémico en el episodio endémico actual en el Sudeste de Asia se basaría en la posibilidad de que pacientes con una infección por el virus aviar se infecten por un virus gripal humano (H3N2, H1N1) o a la inversa. La hibridación con recombinación y reorganización genética podría dar lugar a cepas virulentas y con una mejor adaptación a la transmisión interhumana.

La idea puesta en práctica en Holanda en la epidemia de gripe aviar por el subtipo H7N7 en marzo de 2003, de vacunar frente a la gripe humana a personas con riesgo de contagio para el virus aviar pretendía evitar las consecuencias de una coinfección por los dos tipos de virus, humano y aviar.

Los subtipos aviares más peligrosos, debido a su alta patogenicidad, serían además de H5N1, H5N6, H5N2, H5N3, H5N6, H7N1 y H7N7.

En todo caso, la combinación de los 15 tipos de HA y los 9 de NA suponen 256 combinaciones teóricas de virus Influenza tipo A y todos los subtipos han sido aislados de las aves, aunque muy pocos funcionan como altamente patógenos, sin excluir la posibilidad de que los virus de baja virulencia la incrementen a lo largo del proceso infeccioso y ciclos de contagio.

Por esto y otras razones consideramos difícil hacer un análisis prospectivo en un evento tan complejo como es la infección humana por Orthomyxovirus gripales, con tantas variables biológicas, sin bien somos optimistas porque la humanidad está acumulando conocimiento, armas y medios, cada día más sofisticados, para luchar con ventaja frente a cualquier enfermedad infectocontagiosa.

En el caso concreto que nos ocupa son hechos positivos y esperanzadores, la sorprendente estabilidad de la cepa de virus influenza H5N1, causa de la gripe aviar del Sudeste de Asia, por una parte, y las recientes aportaciones científicas con la secuenciación del genoma del pollo y la de la propia estirpe vírica H5N1, sin olvidar los constantes avances en Ingeniería Genética Aplicada a la Industria orientada a la preparación de Vacunas, ni tampoco a la creciente eficacia de la Quimioterapia Antivírica, con inhibidores de la Neuraminidasa como Zanamivir y Oseltamivir, que se han mostrado eficaces en algunos brotes, tanto como agentes curativos como con fines profilácticos.

BIBLIOGRAFÍA

- ANÓNIMO (2004): «Avian influenza (H5N1)». *WHO Weekly Epidemiol. Rec.* 79: 96-99.
- BELSHE, R.B. (1999): «Influenza prevention and treatment: current practices and new horizons». *Ann. Intern. Med.* 131: 621-624.
- GARCÍA, M.; SUÁREZ, D.L.; CRAWFORD, J.M. (1997): «Evolution of H5 subtype avian influenza A viruses in North America». *Virus Res.* 51: 115-124.
- HINSHAW, V.S.; WEBSTER, R.G.; TURNER, B. (1980): «The perpetuation of Orthomyxovirus and Paramyxoviruses in Canadian waterfowl». *Can. J. Microbiol.* 26: 622-639.
- LEVER, W.G. (1978): «The hemagglutinin of influenza viruses: structure, immunology and biological function». *J. Infect. Dis.* 138: 105-109.
- PEIRIS, V.S.; YU, W.C.; CHEUNG, C.Y.; NG, W.F.; NICHOLS, J.M. (2004): «Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease». *Lancet* 31: 617-619.
- PÉREZ BREÑA, P.; CASAS, I. (2004): «Infecciones producidas por los virus de la gripe aviar A (H5N1) en las poblaciones de aves en el sudeste asiático y en la especie humana». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clín.* 22:412-418.
- PIONTROWSKI, M.D. (1999): «Questions validity of equine vaccine field studies». *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 215: 620-621.
- RODRÍGUEZ TORRES, A.; CASTRODEZA, J.; ORTIZ DE LEJARAZU, R (1998): *Vacunaciones preventivas. Principios y aplicaciones*. Ed. Masson, Barcelona.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (1997): *Patógenos emergentes y zoonosis. Curso sobre zoonosis*. Universidad de León. Secretariado de Publicaciones.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (1998): «El reservorio animal en los ciclos de infección y contagio». *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias.* 5: 29-41.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (1998): «Medicina preventiva frente a emergencia infecciosa». *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina.* 115: 571-579.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (1998): «Los animales como reservorios de las enfermedades transmisibles al hombre». *Anales de la Real Academia de Doctores.* 2: 217-230.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (2000): «Los factores ecológicos en la infección y contagio». *Anales de la Real Academia de Doctores.* 4: 127-135.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (2000): «Presente y futuro de la patología infecciosa». *Anales de la Real Academia de Medicina.* 44: 3-20.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (2000): *Emergencia infecciosa. ¿Cuánto de realidad y de especulación?* Real Academia de Ciencias Veterinarias. Madrid.
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (2004): «Influenza aviar y enfermedad de Newcastle. Mesa Redonda sobre la "gripe del pollo" como amenaza para la Salud Pública». Real Academia de Ciencias Veterinarias (pendiente de publicación en los *Anales* de 2004).
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (2004): «El reservorio primordial en el ciclo de contagio infeccioso». Conferencia inaugural del Curso 2004-2005 en la Real Academia de Ciencias Veterinarias (pendiente de publicación en los *Anales* de 2004).
- SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (2005): *España y su misión como defensa en Europa de las infecciones que vienen del Sur. El Estado de España*. Ed. Real Academia de Doctores. San Bernardo, 49. 28015 Madrid.

- SUÁREZ, D.L.; GARCÍA, M.; LATIMER, J. (1999): «Phylogenetic analysis of H7 avian influenza viruses isolated from the live bird markets of the Northeast United States». *J. Virol.* 71: 3567-3573.
- SNACKEN, R. (1999): «Control of influenza. Public Health Policies». *Vaccine* (Suppl. 3) S61-S63.
- STEVENS, J.; CORPER, A.L.; BASLER, CH.F.; TAUTENBERGER, J.K.; PALESE, P.; WILSON, J.A. (2004) Structure of the uncleaved human H1 hemagglutinin from the extinct 1918 influenza virus. *Science.* 303: 1866-1870.
- SWAYNE, D.E.; SUÁREZ, D.L. (2000): «Highly pathogenic avian influenza». *Rev. Sci. Technol.* 19: 463-482.
- SWAYNE, D.E.; KING, D.J. (2003): «Avian influenza and Newcastle disease. Veterinary Medicine today: zoonosis update». *JAVMA* 22: 1534-1540.
- WEBSTER, R.G. (1973): «Influenza virus neuraminidase inhibition test procedures». *Bull. WHO* 48: 199-202.

INTERVENCIONES

Prof. Domínguez Carmona

Mi enhorabuena al Prof. Suárez por el tema que nos ha traído esta tarde y el modo en el que nos lo ha expuesto. Los sanitarios, los médicos en general estamos acostumbrados a considerar que hay dos grandes grupos de enfermedades, una las propias de los animales, otras las que son propias y exclusivas de los hombres, y hay otras que son las zoonosis, que son las enfermedades de los animales que el hombre puede padecer tal vez de una manera secundaria. Esto es lo tradicional. Pero como el Prof. Suárez nos ha dicho esta tarde, hay un campo extraordinariamente nuevo que ya no es el de la epidemiología de las enfermedades consideradas producidas por el agente causal, un virus, una bacteria, un protozoo, etc., sino que tenemos que ir al estudio de una epidemiología de tipo genérico o de tipo molecular, porque van a ser los genes los que se van a transmitir por medio de las bacterias que se convierten en patógenas para producir distintas enfermedades.

Esto no es solamente una consideración de tipo teórica o de tipo puramente científica, sino de una aplicación práctica extraordinaria. No hay un límite neto entre las enfermedades propias de los animales y la de los hombres. El Prof. Suárez nos ha hablado de la gripe del cerdo, la epidemia que en cierto modo costó disgustos políticos a Jonson cuando empezó a vacunarse contra la gripe que había afectado a aquel fuerte militar. Son muchísimas las enfermedades, ¿por qué el VIH que ha afectado a antropoides en un mo-

mento determinado va a pasar al mono, se adapta al mono y después pasa a la especie humana en donde parece que ha encontrado un nicho extraordinariamente útil para su reproducción, etc..?

Pensemos en enfermedades tan humanas como es la rubeola, ¿quién iba a pensar que la rubeola es una zoonosis? La rubeola es una enfermedad también propia de los animales y los mismos animales que transportan la gripe, las aves que van en sus emigraciones también transmiten el virus de la rubeola. Esto plantea un problema importantísimo referente al problema de la erradicación de las enfermedades. Estamos tan orgullosos que hemos erradicado la viruela, y ciertamente no hay casos de viruela humana en el mundo, pero hasta que punto el virus más o menos parecido, la propia viruela del mono, bastante diferente pero al fina y al cabo proceden de un tronco común, tal vez tengamos que seguir estudiando y seguir observando las posibilidades que establecen los ciclos naturales de las enfermedades, para estar atentos y no tengamos epidemias como la que tal vez se nos avecina, que nos ha dicho el Prof. Suárez, referente a la gripe aviar o la nueva modalidad.

Muchísimas gracias y enhorabuena de nuevo al Prof. Suárez.

Prof. Rey Calero

Muchas gracias, Prof. Suárez, por esta magnífica lección, recordando aquella otra exposición que tuvimos aquí con el Instituto de Salud Carlos III y la Real Academia Nacional de Farmacia.

Efectivamente, desde 1580, que es la primera pandemia posiblemente bien estudiada, ha habido 31 pandemias de gripe y, naturalmente, las epidemias que tienen una relación con la gripe aviar, con el H5N1, EN 1997 fue en Hong Kong, luego en 1999 fue el H9N1, es decir, estas variaciones que a veces toman los virus. Ha citado muy bien a Stohr, que concretamente estudia el caso de una niña que muere y que había tenido contacto con los pollos; su madre, que no había tenido contacto, muere también y una tía se salva. En el caso índice, que es el primero, había una relación aviar y el peligro podía ser que pasara la gripe del pollo a los humanos y de los humanos que se combinara entre sí, porque los ocho fragmentos del RNA del virus tienen una gran capacidad de multiplicarse, sobre todo en el cerdo, que es el gran mezclador de estos virus.

Entonces, con todos estos aspectos no hay duda que tanto en Vietnam, como en el valle del río Mekong, es donde parece que ha habido trece personas muertas por este virus de la gripe, y en Tailandia donde tienen este gran problema, son los sitios donde podrían establecerse los distintos brotes epidémicos. En una pandemia se ha estudiado bien desde el punto de vista sanitario y hay cinco fases: la fase cero que tiene tres subfases, que es cuando todavía no ha afectado al hombre; la fase uno cuando contiene caracteres epidémicos en una zona limitada; la fase dos, cuando ya se expande; la fase tres, cuando llega a ser la pandemia; la fase cuatro, cuando prácticamente esta pandemia empieza ya a disminuir; y la fase cinco, cuando cede.

Entonces, con todos estos aspectos hay que tener una cierta precaución, por eso la utilización de vacunas, y, recordando un poco a Cervantes, en todo momento la fortuna siempre deja abierta una puerta abierta para combatir, y en sus frases finales el Prof. Suárez nos ha dicho que podemos combatir a los virus para aplazar la epidemia antes de que se preparen las vacunas. Se dice que utilizando adecuadamente estos inhibidores de la neuroaminidasa se pueden ganar en unos días cinco millones de vacunas que harían falta para bloquear el brote.

Muchas gracias.

Prof. Mayor Zaragoza

Me uno a la felicitación que le han dado mis dos compañeros y mi pregunta es muy concreta: ¿se conocen las características del virus del valle del Mekong, es decir, de los afectados humanos de Vietnam, y se han podido establecer diferencias con el virus aviar?

CONTESTACIONES

Al Prof. Domínguez Carmona

Gracias por su documentada intervención. Que el futuro de la acción patógena microbiana pasara de las bacterias a los genes de virulencia e islas de patogenicidad ya es un hecho y así los postulados de Koch, que establecen la relación de causa a efecto entre

el agente infeccioso y enfermedad, se han adaptado a nivel genético y molecular sin modificar su concepto y significado.

De las más de 300 enfermedades transmisibles o zoonosis hay un número elevado de enfermedades comunes al hombre y simios antropomorfos, sus más próximos parientes, y éste es el origen del SIDA humano, objeto de mi discurso de ingreso en esta Corporación.

No es tan frecuente el salto a mayores distancias filogenéticas, como es el caso de las aves al hombre, y es lo que ocurrió con la «gripe del pollo» en 1997 con la epidemia de Hong Kong y ello ha sido posible debido a un complejo proceso de variación genética con mutaciones puntuales, reordenación genética de segmentos e hibridación intracelular entre estirpes aviares y humanas.

Al Prof. Rey Calero

Gracias por su intervención e información complementaria.

Existen serias dudas de la transmisión de persona a persona y si existe debe ser poco eficaz afortunadamente.

Si apareciese una cepa vírica de fácil transmisión interhumana, la temida pandemia sería inevitable.

La vacunación de las personas con riesgo de infección por la gripe aviar a partir de la epidemia en Holanda y a fin de evitar una hibridización intracelular por coinfección de estirpes, parece la mejor medida frente a la difusión de la enfermedad.

Al Prof. Mayor Zaragoza

Gracias por su precisa intervención.

Las estirpes productoras de la epidemia de influenza aviar que afecta al sudeste de Asia, pertenecen a un mismo subtipo o variante antegénica H5N1. Sin embargo, a pesar de ser el mismo biotipo para la epidemia de Hong-Kong en 1997 y Vietnam y Tailandia en 2003, se ha estimado que no es la misma cepa, que por cierto no ha mutado, y éste es un dato favorable por el momento.

Los casos del valle del Mekong, de triste recuerdo bélico, y los de Vietnam y Tailandia han sido originados por una estirpe idéntica o única.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Magnífica comunicación relacionada con la célebre gripe, célebre ha sido en la historia, en la clínica, en la investigación y no es palabra que habitualmente utilizemos. Es una de las manifestaciones etiopatogénicas de la gripe animal y humana. ¿Son enfermedades independientes o son mutaciones de un núcleo original de viraemias de los animales y del hombre? Yo modestamente creo que eso no está bien establecido, pido excusas por si los magníficos microbiólogos que me escuchan ya tienen otra opinión. Son muy diversas las manifestaciones; no hay más que coger un texto y ver las múltiples variedades etiopatogénicas de las gripes para darnos cuenta las dificultades que entrañan cualquier cuestión, y cómo cualquier mutación de los virus de la gripe de los animales con la gripe humana ha dado y da lugar a controversias en muy diversas escuelas. Creo que al fin y al cabo ello es muy provechoso, hay mutaciones severas, muy distintas, muchas no admitidas completamente hasta que el uso de la experimentación y las infecciones por los virus gripales han dado origen a diversas admisiones de nuevas mutaciones y admisión incluso de especiales grupos etiopatogénicos. Los avances en la inmunología en esta enfermedad de los animales y del hombre tienen una gran importancia. Felicito al Prof. Suárez, comprendiendo las dificultades que ha tenido que estudiar y vencer para hacer su magnífica comunicación, nada sencilla. Yo, por una serie de motivos, estudié hace muchos años este tipo de enfermedades, que han sido y siguen siendo enormemente complejas y que se prestan a un buen número de enseñanzas. Las mutaciones en el virus de la gripe animal y humana son una realidad y explican modernas descripciones de determinados grupos en distintas escuelas. El Prof. Suárez es un gran microbiólogo y ha perfilado un estudio conceptivo importante en esta materia.

Se levanta la sesión.

VII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 15 DE MARZO DE 2005

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

LA MATERIA Y LA ENERGÍA OSCURAS DEL UNIVERSO

DARK MATTER AND DARK ENERGY OF THE UNIVERSE

Por el Excmo. Sr. D. JOSÉ AGUILAR PERIS

Académico de Número

Resumen

Gracias a la interacción gravitatoria sabemos hoy que existe en el universo un tipo de materia que no puede detectarse por emisiones electromagnéticas de ningún tipo. Es la *materia oscura fría* que incluye aproximadamente el 23 por 100 de toda la materia del universo. Sólo un 4 por 100 del contenido del cosmos procede de las estrellas, galaxias y átomos aislados (especialmente hidrógeno y helio). El 73 por 100 restante está formado por la llamada energía oscura.

Actualmente se admite que la materia oscura está congelada en su mayor parte en forma de filamentos que enlazan las superficies de los vacíos cósmicos a través de cientos de millones de años luz. Sus componentes principales serían dos partículas hipotéticas, *neutralino* y *axión*, que surgen de una teoría supersimétrica pendiente de comprobación experimental.

Más recientemente se ha descubierto que el universo no disminuye su velocidad de expansión como se creía hasta 1997. Por el contrario, el universo está incrementando su velocidad de expansión como si estuviera propulsado por una fuerza gravitatoria repulsiva que nos recuerda el parámetro cosmológico de Einstein. Si esta expansión acelerada continuara otros 14.000

millones de años, el cielo nocturno se oscurecería y sólo serían visibles un puñado de estrellas y galaxias.

Abstract

At the turn of the 20th Century, the Universe was thought to consist of our solar system, the Sun, planets, satellites and comets, floating under the Milky Way. The astronomers were ignorant of the existence of galaxies, clusters, quasars and black holes. Over the last ten years the Cosmology has made remarkable progress in our understanding of the composition of the Universe: 23 per cent is in an unknown form called *dark matter*; 73 per cent in another form called *dark energy*; 3 per cent is made of free hydrogen and helium atoms; 0.5 per cent makes up all the light we see in the night including the stars, clusters and superclusters; 0.3 per cent is in free neutrino particles; and finally, 0.03 per cent is in the heavier nuclei of which the Sun, the Earth and ourselves are made. In this work we study specially the dark matter and the dark energy. The first one appears to be attached to galaxies, and astronomers agree that it is cold, meaning that the particles that make up that matter are not moving fast. Very recently astronomers discovered that a tremendous amount of the so-called dark energy exists and that it is pushing and accelerating the expansion of the Universe. Should this expansion continue for another 14,000 million years, the sky will darken with only a handful of galaxies remaining visible.

1. INTRODUCCIÓN

Gracias a los avances tecnológicos (especialmente los poderosos telescopios y sondas espaciales), la astrofísica y la cosmología son ciencias que avanzan hoy rápidamente. Hace escasamente un siglo se desconocía la existencia de Plutón, el último de los planetas del sistema solar y los astrónomos creían que el universo estaba constituido exclusivamente por nuestra Galaxia (la Vía Láctea), centrada en el Sol, con sus estrellas y algunas nebulosas diluidas. Einstein, en su teoría general de la relatividad (1915), defendía un universo estacionario y finito. Más allá de los astros visibles se suponía que no había más que espacio vacío.

En 1917 el astrónomo estadounidense H. Shapley descubre que el Sol se encuentra realmente en una de las ramas en espiral de la Vía Láctea, a 30.000 años luz del centro de la misma, y que no es más que una estrella modesta en un conjunto de 100.000 millones de estrellas.

Hoy sabemos que en el cosmos existen miles de millones de galaxias como la Vía Láctea y cientos de tipos de objetos astronó-

micos como las estrellas enanas blancas, gigantes rojas, estrellas de neutrones, cuásares, nebulosas, agujeros negros, novas y supernovas, etc. Las mayores estructuras del universo son los cúmulos y supercúmulos de galaxias unidas gravitatoriamente alrededor de un centro de masas común.

Virtualmente casi todo el conocimiento del universo que tienen los astrónomos se ha construido sobre «pedestales de luz». Los objetos brillantes que llenan el cielo nocturno fueron durante siglos las únicas herramientas utilizadas para su estudio. Lo mismo ocurre hoy cuando desde la ventanilla de un avión observamos, ya de noche, el aterrizaje en una gran ciudad. Sólo podemos intuir la topografía de la ciudad y sus alrededores gracias a las luces de las carreteras, calles y edificios iluminados. El resto de la ciudad —en su mayor parte— queda en la oscuridad.

Actualmente también se obtiene información astronómica cuando los objetos a estudiar emiten radiaciones electromagnéticas (EM) no luminosas. Así se han detectado ondas de radio emitidas por los llamados *púlsares*, espectros de microondas procedentes del fondo del universo y rayos X que proceden de plasmas calientes en sistemas de estrellas binarias y agujeros negros.

Gracias a la interacción gravitatoria sabemos además que existe en el universo un tipo de materia de naturaleza desconocida que no puede detectarse por la intervención de emisiones EM de ningún tipo. Es lo que se denomina *materia oscura* y lo más sorprendente es que constituye aproximadamente la cuarta parte de la masa del universo. Junto con la llamada *energía oscura*, el objeto de esta comunicación es ofrecer «un poco de luz» a los conocimientos teóricos y a las experiencias de detección de esta rama «casi invisible» de la cosmología guiados por la teoría de Einstein de la gravitación.

2. MATERIA OSCURA

Las primeras huellas de la materia oscura aparecieron en el siglo pasado. Un astrofísico excéntrico de origen suizo, Fritz Zwicky, del Instituto Tecnológico de California (Caltech), en los años 30, analizaba las velocidades y las masas de algunas de las 10.000 galaxias que forman el Cúmulo de Virgo a unos 60 millones de años luz de la Tierra. Este astrofísico hacía y rehacía sus cálculos, pero las cuentas no le salían. Las velocidades de las galaxias individua-

les eran tan grandes que muchas de ellas superaban su velocidad de escape, calculada a partir de la masa del conjunto. Sin embargo, no escapaban y el cúmulo se mantenía estable. Finalmente llegó a una conclusión atrevida. La velocidad de escape de las galaxias era mucho mayor de la esperada porque el cúmulo poseía en su interior una masa gravitatoria adicional, no visible, del orden de 10 veces mayor que la suma total de las masas ordinarias de las galaxias contenidas. A esta masa invisible extra, Zwicky le llamó *materia oscura*. Los astrofísicos de su época no le dieron mucha importancia, pero la verdad es que sin la materia oscura, el Cúmulo de Virgo se habría dispersado hace millones de años.

Sin embargo, desde entonces se han observado fenómenos idénticos en el estudio de otros cúmulos y galaxias individuales. La materia oscura estaba presente en todos ellos, incluso en nuestra Vía Láctea. Aquellos «pedestales de luz» que citábamos en la introducción debían estar empotrados en dicha materia oscura. Zwicky ideó la siguiente analogía. El universo es análogo a un iceberg del que sólo vemos la parte emergente del hielo. Los otros 9/10 de su masa son invisibles debajo de la superficie del agua. Sin embargo, hay algo distinto en esta analogía. Se sabe muy bien que la masa sumergida del iceberg está formada por hielo, mientras que la masa oscura del universo sigue siendo hoy, 70 años después del descubrimiento de Zwicky, uno de los grandes misterios de la astrofísica contemporánea.

Fue el astrónomo holandés Jan Oort el primero que en 1932 descubrió un método original para determinar la proporción de materia oscura contenida en la Vía Láctea. Había observado que las estrellas de nuestra galaxia al girar alrededor del centro de la misma se desplazan como los caballos de un «tiovivo», es decir, mientras dan una vuelta completa, suben y bajan varias veces. Respecto al plano galáctico, su movimiento es semejante al de un péndulo. A partir de la longitud de este péndulo astronómico y el tiempo de una oscilación completa, Oort consiguió determinar la fuerza gravitatoria y con ello, la masa total de la estrella oscilante. Esta masa resultó ser muy superior a la materia observable deducida por su emisión luminosa. La evidencia experimental sugiere que la Vía Láctea y, en general, todas las galaxias espirales en su conjunto están inmersas en una envoltura esférica de materia oscura o *halo*. Dada nuestra posición en la Vía Láctea, aproximadamente la mitad de la gravedad que mantiene la Tierra en órbita es debida a la materia oscura.

Actualmente el método más utilizado para detectar la materia oscura de una galaxia (o cúmulo de galaxias) es el de «la lente gravitatoria». Está basado en la deflexión que experimenta la luz visible de un astro muy alejado (un cuásar brillante, por ejemplo) al pasar por las proximidades de la galaxia, la cual actúa como una lente natural¹. Normalmente se producen imágenes múltiples del mismo cuásar, ya que la luz que éste emite puede rodear la galaxia según trayectorias distintas y alcanzar el telescopio en tiempos diferentes. Si la fuente de luz centellea, cada imagen producirá destellos en tiempos distintos. Como estas desviaciones y fenómenos ópticos dependen en último término de la cantidad y distribución total de la masa (ordinaria + oscura) de la galaxia, los astrofísicos pueden calcular la materia oscura que ésta posee. Actualmente varios observatorios en colaboración están realizando con este método un mapa cósmico tridimensional de la materia oscura del universo mediante los llamados telescopios sinópticos LSST (*Large Synoptic Survey Telescope*) que facilitan la visión conjunta e informatizada de los datos resultantes en las profundidades del espacio intergaláctico con un detalle sin precedentes. Al finalizar 2004 el proyecto había realizado ya un estudio global de más de 100 millones de objetos celestes y las distancias de éstos a más de un millón de galaxias y cúmulos que actuaron de lentes.

En los primeros años después del descubrimiento de la materia oscura se pensó que esta materia podría estar compuesta por aquellos astros incapaces de emitir radiación EM o que estuvieran demasiado fríos o demasiado alejados para que sus emisiones luminosas alcanzasen los telescopios terrestres. Entre estos candidatos a la materia oscura se encontraban: (i) *los planetas gigantes extrasolares* del tamaño de Júpiter o mayores; (ii) *las estrellas enanas blancas* que al consumir su material de fusión se colapsan con muy baja luminosidad; (iii) *las estrellas enanas marrones* cuya luminosidad es

¹ Esta deflexión gravitatoria de la luz fue prevista por Einstein y analizada en su teoría general de la relatividad. En 1919 se demostró experimentalmente al comprobar la desviación de la luz de cinco estrellas al pasar por las proximidades del Sol durante un eclipse solar. Al superponer las fotografías de las cinco estrellas con las obtenidas varios días antes del eclipse se observó que la luz de las mismas se había desviado 1,61 segundos de arco por la acción gravitatoria del Sol. Einstein había predicho que la deflexión sería de 1,71 segundos. Pocas áreas de la cosmología quedaron fuera de las teorías de Einstein a pesar de que cuando éstas se publicaron apenas se sabía nada del mundo de las galaxias. E. Hubble no había entrado todavía en el escenario de la astrofísica. Practicaba boxeo en su universidad.

un millón de veces menor que la del Sol; y (iv) *los agujeros negros* que surgen de estrellas gigantes, de masa 25 veces (al menos) superior a la del Sol, que se colapsan hasta dimensiones tan pequeñas que las fuerzas gravitatorias internas no dejan escapar nada de su interior, ni siquiera la luz. Todos estos candidatos sólo podían detectarse por su propio campo gravitatorio. Sin embargo, pronto se vio que todo este material astronómico reunido no bastaba para explicar la materia prevista ni tampoco suficiente para aceptar un universo cerrado o plano. Además, el número de estrellas con masa suficiente para crear agujeros negros en el futuro es muy escaso.

La introducción de la física de partículas en cosmología durante los años 1980-90 aportó un nuevo escenario. La materia oscura podía estar constituida por neutrinos cuya existencia se había comprobado experimentalmente y otras dos partículas hipotéticas, el *neutralino* de 10 a 100 veces más pesado que el protón y el *axión*, mucho más ligero que el electrón. Esta teoría alcanzó su máximo crédito en 1998 al confirmarse en un laboratorio japonés que los neutrinos producidos en la atmósfera terrestre por los rayos cósmicos y en las reacciones de fusión en el interior del Sol poseían masa, aunque muy pequeña². Sin embargo, la materia oscura no puede justificarse sólo con la masa de los neutrinos (excepcionalmente pequeña) incluso teniendo en cuenta los producidos (0,03 por 100 de la masa del universo) en la Gran Explosión, o *big bang*. En cuanto a las partículas más exóticas, el neutralino y el axión, no han superado hasta ahora ninguna prueba experimental. De momento se les atribuye una masa oscura «fría». Este adjetivo procede de una hipótesis según la cual las partículas de materia oscura se movían lentamente cuando las galaxias comenzaron a formarse. En este sentido los neutrinos, de velocidad próxima a la luz, quedan definitivamente excluidos. También en la Universidad de Stanford (California), el físico Blas Cabrera Navarro³ está desarrollando un dispositivo que contiene superconductores a una temperatura de 20 mK a fin de detectar neutralinos en el fondo de una mina de 80 metros de profundidad en Minnesota. Mientras esperamos noticias de la primera observación de una de estas partículas, lo que sí sabemos es que la materia oscura es un auténtico enigma cosmológico. Desde el ori-

² La masa no nula del neutrino es la primera contradicción demostrada del modelo estándar de la materia creado por M. Gell-Mann.

³ Nieto de Blas Cabrera y Felipe, el gran pionero de la física española de principios del siglo xx.

gen del universo, de un modo que se desconoce, la materia oscura (en una proporción del 23 por ciento de la masa total) fue capaz de reunir y estabilizar la materia ordinaria en cúmulos, galaxias, estrellas, planetas y seres vivos. Hoy es evidente que nunca entenderemos la arquitectura del universo estudiando sólo la luz de las estrellas.

3. ENERGÍA OSCURA

Hace escasamente siete años el universo experimentó un nuevo impacto en el modelo supuesto hasta entonces. Dos equipos de astrofísicos, uno en Australia dirigido por Brian Schmidt y otro en California dirigido por S. Perlmutter, anunciaron que el universo en expansión se aceleraba. Ambos equipos intentaban medir la deceleración del universo y descubrieron todo lo contrario. En lugar de disminuir su velocidad de expansión como era de esperar, ya que la atracción gravitatoria de toda la masa del universo tiende a moderar la expansión provocada por el big bang, observaron que el universo se encontraba en franca aceleración. Todo ocurría como si el universo estuviera propulsado por una fuerza antigravitatoria asociada a una especie de energía misteriosa que aceleraba la expansión cósmica y que llamaron *energía oscura*⁴, quizás para cubrir la ignorancia sobre su origen.

Ambos equipos descubrieron este fenómeno analizando las explosiones súbitas (*supernovas*) de estrellas enanas blancas, ricas en carbono y oxígeno, situadas en galaxias muy alejadas. Estas supernovas se originan cuando, agotado el material nuclear de fusión, las estrellas resultan incapaces de soportar su propio peso y se colapsan hasta alcanzar un radio 100 veces menor que el del Sol. Si su masa es entonces superior a 1,4 veces la masa solar (*límite de Chandraseckar*), las enanas blancas sometidas a presiones gigantescas (en las que interviene finalmente el principio de exclusión de Pauli ya que sus componentes son fermiones que no pueden ocupar el mismo estado) estallan violentamente; es la llamada *supernova de tipo 1A*⁵.

⁴ Es un buen ejemplo de «serendipia» o descubrimiento científico por azar. Buscaban la confirmación de un fenómeno que consideraban cierto y descubrieron lo contrario.

⁵ Si la masa no alcanza el límite de Chandraseckar, como ocurre obviamente con el Sol, la estrella enana blanca comienza a enfriarse, en cuyo estado permanecerá siempre.

El brillo máximo que alcanzan estas supernovas es muy semejante en todas las explosiones, lo que permite calibrar su luminosidad como parámetro ideal para medir distancias (como la famosa «bujía estándar» de los antiguos ópticos). Los dos equipos de astrofísicos mencionados, a partir de las distancias y desviaciones Doppler al rojo de un centenar de supernovas de tipo 1A observaron que en todos los casos, éstas eran menos brillantes y, por tanto, estaban más lejos de lo previsto, es decir, el universo se había expandido con aceleración positiva durante el tiempo transcurrido desde su explosión. Estos «cazadores» de supernovas 1A llegaron también a la conclusión de que el universo se expansionaba más lentamente hace unos 5.000 millones de años y desde entonces se aceleró.

El mayor problema de este fenómeno es que nadie tiene la menor idea de lo que es la energía oscura. Es evidente que tiene asociada una fuerza antigravitatoria y que actúa directamente sobre el espacio. Para algunos cosmólogos este proceso guarda cierta analogía con la inflación primordial que tuvo lugar 10^{-35} segundos después de la Gran Explosión, según la hipótesis de Alan Guth (1980). No obstante, existe una diferencia fundamental; la energía oscura ejerce una influencia más suave sobre el espacio durante un tiempo mucho mayor que la inflación primordial, la cual fue una expansión súbita y gigantesca durante una fracción de segundo. Los partidarios de esta hipótesis llaman *quintaesencia* a la fuerza asociada a la energía oscura y opinan que ambas fuerzas fueron creadas al mismo tiempo y conducidas por un mismo campo escalar de energía variable. La inflación cesó rápidamente mientras que la quintaesencia, enmascarada por otros fenómenos más energéticos, no se hizo aparente hasta mucho más tarde en la historia del Universo. Hoy se admite que la energía oscura contribuye con un 73% al contenido de energía del Cosmos.

La idea de esta fuerza antigravitatoria en el universo es sorprendente pero no es nueva. En su teoría general de la relatividad aplicada al cosmos (1917), Einstein introdujo un tipo de fuerza análoga para mantener estático el universo, ya que de otro modo se colapsaría por la fuerza de la gravedad. Por entonces no se conocía la hipótesis de la Gran Explosión y Einstein incluyó en sus cálculos una fuerza repulsiva que actuaba a grandes distancias —*la constante cosmológica*— a la que asignó un valor adecuado (*ad hoc*). En 1931 E. Hubble, analizando la desviación Doppler hacia el rojo

de los espectros emitidos por galaxias distantes, descubrió que éstas se alejaban de la Vía Láctea con una velocidad v proporcional a la distancia R ($v = HR$, *ley de Hubble*, siendo H el parámetro de Hubble). El universo no era estático, sino que se expansionaba y Einstein suprimió entonces la constante cosmológica de sus cálculos y con toda sinceridad afirmó que aquella idea había sido el mayor error de su vida. Con la teoría de la Gran Explosión, el «parámetro cosmológico» de Einstein era innecesario, pues en un universo que se expande, la gravedad frenará la velocidad de expansión. Nunca pudo pensar que unos 40 años después de su muerte se descubriría una *fuerza cosmológica* antigravitatoria, motivada por una energía extraña oscura, equivalente en cierto modo a su famosa constante que tantos disgustos le dio ⁶.

4. EL FONDO CÓSMICO DE MICROONDAS DEL UNIVERSO

En el universo primitivo la energía estaba distribuida en forma de materia (partículas) y radiación (fotones). Los fotones, constantemente absorbidos e irradiados de nuevo por el plasma denso de las partículas cargadas, no permitían la formación de átomos neutros. Cuando el universo cumplió aproximadamente 380.000 años de existencia ya se había expandido y enfriado lo suficiente ($T=3.000$ K) para que electrones y bariones se unieran formando átomos de hidrógeno (76%) y de helio (24%) neutros, con trazas de ^2D , ^3He y ^7Li (*nucleosíntesis de G. Gamow, 1946*). Los fotones se liberaron de la materia y se propagaron en un universo transparente ocupando un espacio cada vez mayor y más frío. Hoy, en cualquier punto del universo, estamos inmersos en un fondo de microondas que fue observado casualmente en 1965 por los radioastrónomos A. Penzias y R. Wilson en los laboratorios Bell de los EEUU cuando detectaban microondas procedentes de satélites de telecomunicaciones y un misterioso ruido de fondo perturbaba su trabajo. Esta radiación, independiente de la dirección enfocada por la antena de su radiotelescopio y prácticamente isótropa, poseía un espectro equivalente al de un cuerpo negro ideal a la temperatura de 3 kelvin. Era el «último resplandor» del calor residual de la Gran Explosión que con

⁶ No hay más remedio que afirmar «en román paladino» que Einstein tenía siempre razón, incluso cuando se equivocaba.

la expansión del universo se había enfriado de los 3000 K en origen a los 3 K de la época actual. Por eso le llamaron *fondo cósmico de microondas* (FCM). Había sido previsto teóricamente por G. Gamow y R. Alpher en 1948 como una reliquia necesaria de la fase más cálida del universo. Este fondo de radiación, aunque contribuye despreciablemente al contenido energético total del cosmos (un 0,01 por cien del total) iba a convertirse en el punto de partida que nos revelase la composición actual del universo.

En 1989 G. Smoot y su equipo de la Universidad de California con la ayuda de la NASA pusieron en órbita polar a 900 km de altura el satélite COBE (*Cosmic Background Explorer*). A los pocos días de entrar en operación, sus medidas, realizadas con un espectrofotómetro de infrarrojos, ofrecían un espectro térmico de alta calidad correspondiente hoy a una temperatura $T = 2,728 \pm 0,002$ K. El COBE tenía además otra misión. La presencia de galaxias y cúmulos en el cosmos, junto a inmensas extensiones de vacío estelar, contradecían la idea de una exacta homogeneidad e isotropía en el universo (conclusión que fue llamada por Einstein *principio cosmológico*). *Se consideró que era necesaria la existencia de pequeñas irregularidades (o «semillas cósmicas») en la distribución de materia y energía en el estado primitivo del universo para que en el futuro diesen lugar a la formación de las estructuras mencionadas.* Estas fluctuaciones debían aparecer en las medidas realizadas por un radiómetro diferencial de microondas que poseía el COBE y que el equipo de Smoot recibía y plasmaba en un mapa del firmamento. Inicialmente estos mapas eran poco definidos, pero a los tres años del lanzamiento y después de múltiples correcciones astronómicas se detectaron las anisotropías buscadas en forma de rizos en el espacio-tiempo que indicaban diferencias de temperatura del FCM del orden de una cienmilésima de grado. Sólo la hipótesis de la *gran inflación* podía explicar tanta homogeneidad en el cosmos. El universo primordial se expansionó con tal rapidez (a velocidades muy superiores a la de la luz⁷) que no tuvo tiempo de alterar su uniformidad más allá de las fluctuaciones mencionadas y su tamaño aumentó en un factor 10^{30} . Las zonas más frías del FCM procedían de los fotones menos energéticos que escaparon de la parte superior del plasma (gases de H y He enrarecidos) y las zonas más calientes

⁷ La teoría de la relatividad de Einstein prohíbe superar la velocidad de la luz en un espacio vacío, pero el propio espacio puede expansionarse a velocidades muy superiores.

procedían de los fotones más energéticos que escaparon de la parte más densa del plasma. Por tanto, existía una correlación evidente entre las fluctuaciones de temperatura del FCM y la falta de homogeneidad de la densidad de la materia que fueron el origen de las llamadas por Smoot *arrugas del universo*, a partir de las cuales se formaron las primeras estrellas y galaxias.

El último observatorio espacial diseñado con este fin por el cosmólogo D. Wilkinson de la Universidad de Princeton fue el WMAP (*Wilkinson Microwave Anisotropy Probe*). Situado en órbita el año 2001 a una altura de $1,6 \times 10^6$ kilómetros, está provisto de una tecnología 40 veces superior que la del COBE. Los mapas del universo obtenidos por este satélite son mosaicos de puntos coloreados que muestran fluctuaciones de temperatura en el FCM del orden de una millonésima de grado (*anisotropías de Wilkinson*). Todas las medidas realizadas sobre estas anisotropías muestran que la diferencia de temperaturas ΔT entre dos puntos brillantes del firmamento es máxima cuando dichos puntos poseen una separación angular de $1,0^\circ$ y corresponden a un universo plano y una densidad cósmica crítica de valor $\Omega_0 = 1,02 \pm 0,02$. Si $\Omega < \Omega_0$ el ΔT es máximo entre puntos separados angularmente menos de $1,0^\circ$ y el universo sería *abierto* como una geometría de «silla de montar». Si $\Omega > \Omega_0$ el universo sería *cerrado* con una geometría esférica y el ΔT sería máximo entre puntos separados más de un grado⁸. Si el universo es *plano* se expandirá indefinidamente.

Cuando materia y fotones se desacoplaron (desde entonces vivieron historias separadas), la gravedad, asociada a la expansión del universo que por enfriamiento producía fluctuaciones de densidad en las enormes nubes de hidrógeno y helio recién formadas, dio lugar a irregularidades de la materia en su distribución en el universo primitivo, que con el transcurso del tiempo originaron embriones de estrellas y galaxias. A medida que estos embriones de materia ordinaria evolucionaron, fueron atraídos por la telaraña primitiva de grandes estructuras que ya había constituido la materia oscura (que nunca interaccionó con los fotones). Ensambladas ambas ma-

⁸ La forma más simple de representar la geometría del universo es imaginar un triángulo con una base fija y los otros dos lados dibujados sobre superficies de curvatura distinta. Para una superficie del universo en forma de silla de montar, los ángulos interiores son todos menores —y para una superficie esférica todos mayores— que para el mismo triángulo dibujado sobre una superficie plana en geometría euclídea.

terias (ordinaria + oscura), cuando el universo tenía entre 100 y 500 millones de años de existencia, se iniciaron las primeras reacciones nucleares en el interior de las estrellas provocadas por la compresión gravitatoria, liberando grandes cantidades de energía y comenzaron a brillar en el firmamento. Con el tiempo el universo se fue llenando de luz. La *larga etapa oscura* del universo había finalizado y las estrellas comenzaron con diligencia a producir elementos pesados. Unos 9.000 millones de años después de la Gran Explosión, en un rincón de la Vía Láctea, comenzó a brillar nuestro Sol y el sistema solar recibió un torrente de energía en forma de luz y calor. Unos 4.500 millones de años más tarde en nuestro planeta comenzó la vida y sólo hace 2 millones de años aparecieron los primeros antecesores del *homo sapiens*.

5. COMPOSICIÓN GLOBAL DEL UNIVERSO

El análisis exhaustivo de los datos obtenidos por la sonda de Wilkinson y sus colaboradores ofrece los siguientes resultados respecto a la composición global y edad del universo, ampliamente aceptados por astrofísicos y cosmólogos:

Energía oscura	73,0	por 100
Materia oscura fría (no bariónica)	23,0	" "
Nubes de átomos libres de H ₂ y He	3,0	" "
Estrellas, galaxias y otras estructuras (bariones)	0,5	" "
Núcleos pesados en estrellas de segunda generación y en los seres vivos de la tierra	0,03	" "
Edad del universo	13,7× 10 ⁹	años

A finales de 2003 la revista *Science* publicó una lista con los 10 eventos científicos más relevantes realizados en dicho año (desde su punto de vista). El primer puesto de esta clasificación fue concedido a la confirmación de la composición global del universo expuesta en esta tabla gracias, entre otros, a los datos aportados por el satélite WMAP (financiado por la NASA) bajo la dirección de Wilkinson y sus colaboradores mediante el análisis del fondo de microondas del universo.

6. CONCLUSIONES

I. Hace pocas décadas la idea de que sólo el 4 por ciento del universo es materia ordinaria habría parecido absurdo a la casi totalidad de los científicos.

II. No sabemos de dónde procede el 96 por ciento restante de materia y energía oscuras⁹. Los cosmólogos opinan que la materia oscura está congelada en su mayor parte en forma de filamentos espumosos, que enlazan los vacíos cósmicos a través de cientos de millones de años luz y tiende a agrupar y estabilizar las galaxias y cúmulos. Por su parte, la energía oscura con su fuerza antigravitatoria evita el colapso estelar. Una y otra son las causantes de la actual distribución del mundo galáctico.

III. Con el nuevo siglo se ha entrado en una «edad de oro» de la Cosmología. Así ha surgido un *Modelo Cosmológico Estándar* basado en datos astrofísicos exactos y en desarrollos teóricos bien fundamentados. Tales son: (i) la relatividad general y el principio cosmológico de Einstein (1917); (ii) la ley de Hubble (1929); (iii) la materia oscura (1930); (iv) la nucleosíntesis de Gamow (1946); (v) el fondo cósmico de microondas (1965); (vi) la inflación primordial de Guth (1980); (vii) las semillas cósmicas de Smoot (1989) y Wilkinson (2000); y (viii) la energía oscura (1998). ¿Significa esto que la cosmología alcanzará pronto la solución a sus problemas? Sin duda, no. Todos los científicos saben bien que todo descubrimiento suele engendrar nuevos interrogantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALTMANN, M. (2002): «Neutrinos: de la decouverte aux mesures de précision». *Courrier CERN* 19-22.
2. BATTANER, E. (2003): «Materia oscura, reacceleración e inflación». *Revista de Física*, 24-28.
3. CABRERA, B. (2003): «Buscando la materia oscura del universo». *Academia de Ciencias e Ingeniería de Lanzarote. Discurso Académico*, 5-16
4. CALDWELL, R. (2004): «Dark Energy». <http://physicsweb.org/articles/>
5. CALDWELL, R. (2004): «Biggest maps of Univers clinches dark energy». <http://newscientist.com/news>
6. DODELSON, S. (2003): «Modern Cosmology» *Academic Press*, San Diego, California.
7. KRAUSS, L. y TURNER, M. (2004): «La constante cosmológica». *Investigación y Ciencia*, nov., 51-57.

⁹ En su teoría de la relatividad Einstein establece que la energía E y la masa m vienen asociadas según la ecuación $E = mc^2$. Si un cuerpo proporciona energía en forma de radiación, su masa disminuye en E/c^2 .

8. LINDNER, E. (2003): «Sur la piste de l'énergie noire». *Courrier CERN*, sept, 23-24.
9. LÜST, D. (2002): «L'atelier de Desy associe gravitation et particules». *Courrier CERN*, ab, 27-29.
10. MAROTO, L. y RAMÍREZ, J. (2004): «The Standard Cosmological Model». *Ed. Dpto. Física Teórica, U. Complutense* 383-410.
11. MAVROMATOS, N. et PINFOLD, J. (2004): «Le ciel a rendez-vous avec la terre». *Courrier CERN*, 17-19.
12. NADIS, S. (2004): «Inflation comes of age». *Astronomy special cosmology issue*, 33-41.
13. NASA (2002): «Mapas celestes obtenidos con satélites COBE y WMAP». <http://map.gsfc.nasa.gov>
14. REBOLO, R. (2003): «Exoplanetas». *Revista Española de Física*, jul-ag., 22-33.
15. SCIENCE (2003): «Breakthrough of the year 2003». *Science*, 2038-2045.
16. SMOOT, G. (1994): *Arrugas en el universo*. Plaza y Janés. Barcelona.
17. TURLER, M. (2004): «Les rayons X: pour ou contre l'énergie sombre?». *Courrier CERN*, jul-ag., 12.
18. VILLARD, R. (2004): «Unveiling the dark Universe». *Astronomy special cosmology issue*, 88-93.
19. YNDURAIN, F. (2003): *La física del siglo XXI*. Ed. S. del Campo. Instituto de España, 111-140.

INTERVENCIÓN DEL PROF. DOMÍNGUEZ CARMONA

Impresionado aún por la presentación que el Prof. Aguilar nos ha hecho de la cosmología cuya historia es una lección de humildad para la humanidad, desde que consideraba que el planeta Tierra era el centro del Universo ha llegado a ser un satélite del Sol, astro divinizado por muchas culturas y que en realidad es sólo una humilde estrella situada en un lugar periférico de nuestra galaxia, una de los millones de nuestro Universo, mínima parte de un total representado por la materia y por la energías oscuras. Y aún más es posible que este Universo sea solo uno de los innumerables Universos, paralelos. ¡Y yo que me creía importante! En mi ignorancia debería hacerle miles de preguntas al Prof. Aguilar, una de ellas; ¿la energía oscura es o no una fuerza?, es decir, una explicación verbal de las relaciones entre partículas, como se podría deducir de su nombre. Sabemos que las fuerzas de la naturaleza, como la gravedad, las radiaciones etc... influyen e incluso determinan la vida y la salud. ¿En qué medida y de qué modo influyen en los seres vivos esa energía oscura?

Reitero mi felicitación al Prof. Aguilar.

CONTESTACIÓN DEL PROF. AGUILAR

Gracias, Prof. Domínguez, por tus amables palabras. La energía oscura no es una fuerza, pero del mismo modo que la energía gravitatoria tiene asociada una fuerza gravitatoria universal deducida por Newton, también la fuerza oscura posee una fuerza asociada capaz de acelerar la expansión del universo. Esta fuerza es gravitatoriamente repulsiva —que nos recuerda la magnitud matemática introducida por Einstein, la «constante cosmológica»— y se encuentra dispersa uniformemente a través del espacio. Se sabe muy poco más de su naturaleza y de su posible influencia en los seres vivos; de momento, ninguna. Contribuye en un 73,0 por 100 a la densidad energética del universo.

SESIÓN NECROLÓGICA

**EN MEMORIA DEL EXCMO. SR.
D. LUIS CIFUENTES DELATTE**

DÍA 5 DE ABRIL DE 2005

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

DISCURSO DE PRECEPTO

Por el Excmo. Sr. D. DIEGO GRACIA GUILLÉN

Académico de Número

INTERVENCIONES:

- Prof. Sánchez García
- Prof. Cruz Hermida
- Prof. Prof. Díaz-Rubio García
- Prof. Durán Sacristán

SESIÓN NECROLÓGICA EN MEMORIA DEL EXCMO. SR. D. LUIS CIFUENTES DELATTE (1907-2005)

Por el Excmo. Sr. D. DIEGO GRACIA GUILLÉN

Académico de Número

Excmo. Sr. Presidente,
Excmos. Sres. Académicos,
Querida familia de D. Luis Cifuentes Delatte,
Señoras y Señores.

Hace ahora treinta y tres años, en una sesión como esta, Luis Cifuentes Delatte pronunciaba su discurso de ingreso en esta Real Academia. En su primera página hacía un somero balance de su vida pasada y se permitía proyectar, cito sus palabras, «un futuro que durará lo que Dios determine, dueño único de nuestra vida.» Ese futuro, queridos compañeros, ha llegado a su fin. Luis Cifuentes Delatte ha muerto. Con él perdemos todos. Unos, un compañero; otros muchos, un amigo; sus discípulos, un maestro; sus hijos, un padre y su esposa, Irene, un marido. Todos estamos hoy reunidos aquí para recordarle, sin duda con tristeza, pero sobre todo con agradecimiento por lo mucho que hizo en vida y por lo mucho que nos ha dejado en herencia.

Quien fue uno de sus íntimos amigos en vida, Xavier Zubiri, escribió que la historia es entrega de modos de estar en la realidad. La vida es una carrera de relevos, que comienza al nacimiento y termina con el último suspiro. En ese momento salimos de la pista, pero no sin antes haber entregado el testigo a quienes han de continuar viviendo. Al nacer se nos entrega no sólo un cuerpo o una biología, sino también una cultura, o, como decía Zubiri, un «modo

de estar en la realidad.» El nuestro se distingue del de cualquier época anterior, precisamente, en que está dotado de unas posibilidades que ellos no tuvieron. Eso es lo que nos legan las generaciones que nos precedieron, posibilidades de vida, modos de estar en la realidad. Es la herencia que nos donan. Entrega se dice en griego *parádoxis* y en latín *traditio*. La dote que nos entregan al nacer las generaciones anteriores es la base sobre la que tenemos que edificar nuestra vida. Esta consistirá siempre en la creación o no de nuevas posibilidades de vida que enriquezcan o perfeccionen el depósito de las ya existentes, que será lo que entregaremos a las generaciones que nos sucedan. También podemos dilapidar ese depósito, empobrecerlo, empequeñecerlo, envilecerlo. Ese es el criterio para juzgar el significado histórico de una vida humana.

Luis Cifuentes conocía muy bien estas tesis de su amigo y maestro Zubiri, y las puso en práctica en su vida. Desearía hacerlo ver, analizando a continuación los tres momentos fundamentales de que consta ese proceso de entrega de realidad: lo que él recibió de sus mayores, lo que hizo con ese depósito y lo que deja en herencia a las generaciones más jóvenes.

Luis Cifuentes fue hijo de un urólogo, el doctor Pedro Cifuentes Díaz, que a su vez fue discípulo del gran Joaquín Albarrán, sin duda alguna el padre de la Urología entre nosotros. Laín Entralgo mostró hace años en esta Real Academia cómo la obra de Albarrán sintetiza paradigmáticamente las mentalidades clínicas que tanto hicieron avanzar la medicina durante el siglo XIX, la anatomoclínica, para la que la enfermedad se define como lesión celular, la fisiopatológica, que la define como disfunción orgánica, y la etiopatológica, coincidente con el nacimiento de la moderna microbiología. Estas tres mentalidades son las que dieron origen a la medicina experimental moderna, y en el caso de las enfermedades del tracto urinario, a la Urología como especialidad médica. Pues bien, Pedro Cifuentes, tras acabar la carrera el año 1902, doctorarse poco después y trabajar como cirujano general en el Hospital de la Princesa, marchó a París a completar su formación urológica con los máximos representantes de la urología francesa de comienzos de siglo: Albarrán, en el hospital Necker, Legueu en el Tenon, y Marion en el Lariboisière. Vuelto a España, crea y organiza el Servicio de urología en el Hospital de la Princesa, en el que desarrollaría el resto de su actividad profesional. Pedro Cifuentes es uno de los padres de la urología española. Junto con don Leonardo de la

Peña, primer catedrático de esa especialidad en la Facultad de Medicina de la Universidad Central y también Académico de esta corporación, y los doctores González Bravo y Carlos Negrete, fundó la Asociación Española de Urología, de la que fue Presidente, así como de la Academia Médico-Quirúrgica Española. Cifuentes fue miembro correspondiente de las Asociaciones de Urología de Francia, Bélgica, Alemania, Brasil, Portugal e Italia.

El Dr. José Luis Rodríguez Miñón y Cifuentes cuenta una anécdota muy curiosa, que retrata bien la tradición Joaquín Albarrán, Pedro Cifuentes, Luis Cifuentes. «Un día del mes de marzo de 1974 -escribe-, durante mi último año de residencia, intenté realizar una litotricia ciega manual en un paciente prostático con litiasis vesical, con la mala fortuna de provocarle un desgarro en la uretra prostática con perforación del cuello vesical, que motivó la intervención inmediata mediante cirugía abierta para solucionar el «desaguisado» que yo había provocado, evolucionando afortunadamente el enfermo hacia su curación total en poco tiempo. Al día siguiente, comenté personalmente al Dr. Cifuentes Delatte la «trastada» que yo había cometido, y poniendo su mano derecha sobre mi hombro me dijo: «No te preocupes, tienes que aprender esta técnica muy bien. A mí me la enseñó tu abuelo (Dr. Pedro Cifuentes) que la realizaba extraordinariamente bien y que a su vez la aprendió con Albarrán en París. Sube mañana al quirófano que tengo que operar a dos enfermos míos con litiasis vesical». En efecto, continúa el Dr. Rodríguez Miñón, al día siguiente le acompañé en esas dos intervenciones y siempre le agradeceré su magnífica enseñanza aquella mañana, porque incluso me permitió que fragmentase un par de cálculos en un enfermo suyo. Hasta la actualidad he realizado muchas veces esta intervención que es de auténtica artesanía y afortunadamente sin complicaciones, recordando siempre sus consejos. La sigo practicando siempre que hay ocasión para ello, utilizando sus magníficos litotritores que me donó años después de su jubilación cuando abandonó la práctica quirúrgica por razones de edad. Los conservo como un auténtico tesoro y siguen en perfecto funcionamiento después de haber sido adquiridos por mi abuelo (Dr. D. Pedro Cifuentes) en la casa Gentile de París en el año 1.910 ¡hace casi 100 años!».

Luis Cifuentes heredó esta tradición de sus maestros, tres en concreto. En primer término, un urólogo, su padre. De él escribió estas sentidas palabras en su discurso de ingreso en esta Real Academia: «Recuerdo aquella tarde de diciembre, hace ya muchos años,

en la que yo, joven estudiante de medicina, entré por primera vez en esta Casa y me senté entre el público, como hijo del nuevo Académico que aquel día leía su discurso de ingreso. La vida me ha llevado a la misma profesión, a la misma especialidad, y hoy me trae también a esta Academia y no oculto la satisfacción que me produce haber conseguido este gran honor que en aquel tiempo mereció mi padre. Su extraordinaria labor en cirugía urológica le hizo acreedor a tal reconocimiento, pero mis elogios podrían ser considerados parciales, por lo que renuncio a ellos, aunque no al emocionado recuerdo y al homenaje íntimo a quien, en su vida, estuve tan unido con el doble afecto de hijo y discípulo.»

El segundo maestro de Luis Cifuentes fue un gran cirujano general, Plácido González Duarte. Duarte era jefe del servicio de cirugía del Hospital de la Princesa. Allí le conoció Luis Cifuentes, y con él seguiría durante los años de la Guerra Civil, como ayudante suyo en el Hospital de guerra que se montó en el edificio del Colegio del Pilar, de Madrid.. Su relación con él fue continua a todo lo largo de la vida de su maestro, y tras su fallecimiento, acaecido en 1986, presentó una comunicación sobre su vida y su obra en esta Academia el año 1995, bajo el título: «Un magnífico cirujano español: D. Plácido González Duarte, 1897-1986»

El tercer maestro de Luis Cifuentes fue un clínico excepcional, don Carlos Jiménez Díaz, con quien estudió recién aterrizado en Madrid procedente de Sevilla durante el curso 1927-28, y del que ya no se separaría de por vida. A ambos les unía una misma pasión por el conocimiento. Como don Carlos, Luis Cifuentes siempre vivió entusiasmado por la investigación científica y su aplicación a la clínica. Al finalizar la carrera, era alumno interno de Jiménez Díaz, y por influencia suya se veía más inclinado a la investigación clínica que a la práctica asistencial. Cuenta uno de sus grandes discípulos, el doctor Vela Navarrete, que «sus dudas se desvanecieron el día en que su madre, preocupada por su poco entusiasmo urológico, le preguntó: 'Luis, ¿es que no hay nada que investigar en urología?' A partir de ese momento, decidió dedicarse a la Urología, pero con el propósito de unir de forma indeleble la actividad asistencial con la investigación. De este modo, Luis Cifuentes se convirtió en una de las personas que mejor supo asimilar y continuar el espíritu de Jiménez Díaz. Por el doctor José Luis Rodríguez Millón y Cifuentes he conocido una anécdota digna de recuerdo a este respecto. Cuando, en 1950, gana la plaza de jefe de servicio de uro-

logía del Hospital de la Princesa, sus compañeros y amigos le preparan una cena homenaje, a cuyos postres don Carlos Jiménez Díaz afirmó que «si él hubiera tenido un hijo, le hubiera gustado sin lugar a dudas que hubiese sido como Luis Cifuentes Delatte».

No hay duda que Luis Cifuentes fue en este punto verdaderamente afortunado. Tuvo unos excelentes maestros, cada uno excepcional en su línea. Él supo advertir su importancia y aprender de cada uno de ellos lo mejor que tenían. No hay duda que este es uno de los máximos privilegios que puede concederle a alguien la vida, la proximidad y el contacto con buenos maestros. Pero no nos equivoquemos. No hay buenos maestros más que para los buenos discípulos. Es un privilegio tener buenos maestros. Pero es una clara señal de inteligencia del discípulo el identificarlos como buenos y el convertirlos en maestros. Suele pensarse que es el maestro quien hace al discípulo. No digo que no sea así, pero también lo es, y no en menor medida, que es el discípulo quien convierte en maestro al maestro.

Pero nadie puede conformarse con seguir las huellas de sus antepasados o repetir sus hazañas. Eso es imposible. Resultaría siempre y necesariamente falso, anacrónico. La vida, como tantas veces repitió Ortega, es un continuo proceso de innovación. La vida hay que hacerla. Y la tiene que hacer cada uno. Por supuesto, a partir de todo lo recibido. Pero esto último, lo recibido, no puede ser más que el punto de partida. Sobre ello hay que construir. ¿Qué? Nuevas posibilidades, nuevos modos de estar en la realidad; es decir, nuevos hechos, nuevas realidades. Eso será lo que aportaremos cada uno a la historia y a la cultura humanas.

De la etapa de discipulado, pues, a la del trabajo autónomo y original. Luis Cifuentes comenzó muy pronto su propia trayectoria. Tras ingresar en 1930, cuando contaba veintitrés años de edad, en el Servicio de Urología del antiguo Hospital de la Princesa, al lado de su padre, inicia su actividad, tanto clínica como investigadora. El año 1932 publica en *Anales de Medicina Interna* su primer artículo, «Alcalinuria matinal: Una nueva prueba de la función renal». Inmediatamente después, marcha a Alemania, concretamente a Bonn, para trabajar con Von Lichtenberg, quien, junto con Welter, llevó a cabo las primeras pielografías con contraste, mediante cateterismo ureteral. Vuelto a España, presenta y defiende en 1935 su tesis doctoral, elaborada bajo la dirección de don Carlos Jiménez Díaz, «El equilibrio ácido-básico en las nefropatías», una época en

la que, como dice su discípulo Vela Navarrete, «hablar de iones era considerado por muchos colegas como un esnobismo». Los años de la Guerra Civil los pasa en Madrid, trabajando, como ya hemos dicho, junto a Plácido González Duarte. Acabada la guerra, continúa su actividad clínica e investigadora. En 1944 funda junto con los Drs. Puigvert y Pérez Castro los *Archivos Españoles de Urología*. En 1950 gana por oposición la plaza de jefe del servicio de urología del Hospital de la Princesa, que a partir del año 1955 simultanearía con la de jefe de servicio de urología de la Fundación Jiménez Díaz. En 1972 ingresa en la Real Academia Nacional de Medicina. Ese mismo año preside el *Internacional Symposium on Renal Stone Research*, que se celebró en Madrid, y junto con A. Rapado y A. Hodgkinson, edita el volumen *Urinary calculi: Recent advances in aetiology, stone structure and treatment*. A lo largo de toda su vida profesional, junto a su ininterrumpida actividad clínica, publica artículos en revistas especializadas y varios libros de importancia. He aquí los títulos y las fechas: *Cistitis y cistopatías* (1947, 1989), *Cirugía urológica endoscópica* (1962, 1989), *Origen y desarrollo de los cálculos renales* (1972), *El laboratorio del urólogo* (1981) y *Composición y estructura de los cálculos renales* (1984). Este último está dedicado a la memoria de su maestro Carlos Jiménez Díaz, que suscitó en él la pasión por la investigación clínica. Además, fue profesor de Urología en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y Miembro del Patronato de la Fundación Xavier Zubiri.

Basta citar estos títulos, para advertir que en la vida profesional de Luis Cifuentes Delatte hubo unos cuantos temas que le preocuparon especialmente, en su doble faceta de clínico y de investigador. Tres fueron sus principales campos de trabajo. En primer lugar, las cistopatías inflamatorias y degenerativas. Empieza a interesarse por ellas nada más comenzar su actividad clínica en el Hospital de la Princesa, en 1930. La tuberculosis urinaria era entonces muy frecuente, y junto con ella la cistopatía tuberculosa, causa de enormes complicaciones y sufrimientos. Luis Cifuentes fue el primero en llevar a cabo la operación de la enterocitoplastia, consistente en sustituir la vejiga urinaria por un segmento intestinal, con lo que los pacientes mejoraban su sintomatología y calidad de vida. Además de las tuberculosas, eran frecuentes las cistopatías de causa desconocida y para las que no había tratamiento. Durante los años 1943 a 1945, colaboró muy estrechamente con los doctores Gonzalo Urgoiti y Ramón de Urioste, en orden a conocer mejor la

bacteriología de las infecciones urinarias. Fruto de esa colaboración fue el trabajo, publicado en *Revista Clínica Española* en 1943, bajo el título de «Estudio general de 315 casos de infecciones urinarias.» Al año siguiente, en el volumen conmemorativo de los veinticinco años del Instituto Iby, Cifuentes, Urgoiti y Urioste publican un trabajo sobre «Cistitis incrustadas», en el que atribuyen a la especie *Corynebacterium*, y más concretamente a los tipos *Hoffmanni* y *Cutis communis*, un papel importante en las cistitis incrustantes. Este tema le ocupó durante década y media, finalizando con la publicación de su libro *Cistitis y cistopatías*, que vio por vez primera la luz el año 1948, libro en el que defiende abiertamente, en contra de lo que ha sido usual en urología, la importancia clínica de las infecciones del grupo *Corynebacterium* en la génesis de la fase incrustada de las cistitis. Este libro recibió el premio Obieta de la Real Academia Nacional de Medicina de Madrid del año 1947-48. Será en la segunda mitad de los años ochenta cuando se aceptará definitivamente este hallazgo y se caracterizará el microorganismo como *Chorinebacterium urealiticum*, a partir de cepas aisladas y estudiadas por J.M. Ales y F. Soriano en la Fundación Jiménez Díaz de Madrid. Como dice su discípulo Vela Navarrete, «es una pena que el esfuerzo de Luis Cifuentes, hoy reconocido internacionalmente, no haya sido consagrado con la inclusión de su apellido en la identificación terminológica de la bacteria.» Se comprenderá, después de todo esto, el porqué de la nueva edición del libro *Cistitis y cistopatías*, aparecida el año 1989.

Su segundo tema de investigación fue la cirugía endoscópica. En 1946 se trasladó a Ann Arbor, para aprender la técnica de cirugía endoscópica del Dr. Nisbet. Luis Cifuentes fue el pionero de la cirugía urológica endoscópica en nuestro país. Fruto de todo ese trabajo, fue su libro *Cirugía urológica endoscópica*, publicado el año 1961, y vuelto a editar en 1989. El último trabajo que publicó en vida, del año 1993, se titulaba «Mi aprendizaje de la cirugía endoscópica», y es un cálido relato de su experiencia en el Hospital de la Universidad de Michigan.

Su tercer gran tema de estudio fue la litiasis renal. Cabe decir que este fue el tema de su vida. De aparición muy precoz, la investigación sobre este tema fue creciendo en intensidad con el paso del tiempo. En su discurso de ingreso en la Academia, Luis Cifuentes confesaba que a la investigación se consideraba «tan impelido como obligado, impelido por mi propia vocación que, curiosamente, se

hace más viva cuanto más tiempo pasa, acaso porque cuando los años van desgranándose sobre nuestras espaldas, nos damos mejor cuenta cada día de la gran y estremecedora verdad que encierra aquella frase tan repetida pero tan profunda *Ars longa, vita brevis.*»

Luis Cifuentes fue muy consciente de la importancia del estudio microscópico del sedimento urinario. Él lo realizó siempre, con el microscopio de contraste de fases. Fruto de esa experiencia de muchos años, fue la publicación de su libro *El laboratorio del urólogo* (1981). Su primera intervención en esta Real Academia, su discurso de ingreso, se tituló, precisamente, *Origen y desarrollo de los cálculos renales* (1972). Y su última intervención en ella, hace ahora escasos años, también. En 1984 publicó su libro *Composición y estructura de los cálculos urinarios*, donde sintetiza sus más de veinticinco años de dedicación al tema. Todo esto le convirtió en una autoridad internacionalmente reconocida en este campo. Su experiencia en el estudio de la cristalografía de los cálculos urinarios era enorme, probablemente la mayor del momento junto con la del norteamericano Herring. Él fue el primero en describir la xanturia familiar, el año 1967. Y también fue uno de los primeros en disolver los cálculos de ácido úrico con alcalinizantes.

Todavía recuerdo la pasión con la que hablaba de este tema. Resulta difícil, para un lego en la materia, pensar que en un tema como ese cabe la pasión. Pero Luis Cifuentes vivía fascinado por esas estructuras cristalinas que son los cálculos renales. Si bien se piensa, ello no tiene nada de extraño. No conozco ningún campo de la naturaleza que analizado en profundidad no resulte fascinante. Leibniz decía que quien conociera completamente un grano de arena sería Dios. Y un cálculo renal es mucho más que un grano de arena, por más que a veces los denominemos, despectivamente, «arenillas». En él se concentran los misterios de la química, y también los de la biología. En una palabra, el misterio de la realidad. Luis Cifuentes tenía lo que es consustancial a todo verdadero investigador, y es la capacidad de asombro, de admiración. Aristóteles dice al comienzo de la *Metafísica* que el «asombro» es el origen del filosofar. Cabría decir más, que es el origen de todo el conocimiento humano. «Asombro» es la traducción que suele darse del término griego *thaumázein*, que significa otras muchas cosas, entre ellas, milagro. De ahí viene, por ejemplo, «taumaturgo». Y es que la realidad es un milagro, también la del cálculo renal.

Su interés por los cálculos renales vino de la clínica. Así lo re-

cordaba en su discurso de ingreso en nuestra Academia: «Se podría pensar que el hecho de que un cirujano oriente el contenido de su discurso hacia temas en una dirección más bien teórica, no es lo más adecuado a su oficio [...] Pero si yo insisto en el conocimiento básico de la litiasis, es, precisamente, porque ello representa una inquietud que proviene de la preocupación por nuestros propios enfermos, que surge en nuestros quirófanos, que es inseparable de nuestra labor de cirujanos.»

Me vais a permitir que transcriba la página en que recuerda cómo surgió su interés por el estudio de los cálculos renales. Dice así: «Con uno de mis discípulos, Ernesto Canoa Galiana, comencé por los años cincuenta estudios minuciosos de las cristalurias y litiasis de ácido úrico. Nos interesaba poseer experiencia propia analítica para completar la experiencia clínica del problema de las arenillas rojizas de ácido úrico, semejantes a polvo de ladrillo, que presentaban tantos enfermos con cálculos renales o vesicales. Aquellos estudios se iniciaron en el pequeño Laboratorio de Urología del viejo y ya desaparecido Hospital de la Princesa, al poco tiempo de haber tenido el honor de acceder a la jefatura de su Servicio de Urología. Descubrimos entonces, desde nuestro ángulo de urólogos, la gran frecuencia de la gota en nuestro país. Entonces el criterio dominante era justamente el contrario y de manera incomprensible se sostenía que la gota era una afección del Renacimiento, una enfermedad tan sólo de interés histórico y felizmente ya desaparecida. En nuestro importante grupo de enfermos con cálculos de ácido úrico, comprobamos que una gran porción de ellos nos refería típicos ataques de podagra, con la inflamación tan característica del dedo gordo del pie, incluso con presentación de acúmulos de ácido úrico en las manos o en los lóbulos de la oreja, constituyendo a veces voluminosos tofos. Después hemos visto que una proporción muy importante de gotosos tiene problemas renales y la aparición de éstos hace que los urólogos, al canalizarse especialmente esta afección hacia nosotros por razón de estos síntomas litiasicos, tuviéramos más experiencia de la gota que muchos internistas, ya que la proporción de ésta entre sus enfermos se diluía en la gran masa de afecciones de toda clase. Nuestros trabajos fueron publicados en 1955 e hicieron revivir la polémica entre los que aceptaban que la gota era una enfermedad viva, real y presente y los que creían que debía ser relegada más bien a lo que podría llamarse patología histórica. Con medios tan sencillos como la observación

del sedimento urinario en el microscopio y un papel de tornasol, confirmamos primero que tales arenillas rojizas, solamente aparecían en reacciones ácidas y no se presentaban jamás en reacciones neutras y menos aún en la vertiente alcalina de la reacción. Semejante comprobación no era el descubrimiento de un hecho original, pero sí constituía una confirmación personal que enriquecía nuestra propia experiencia. La conclusión lógica era el empleo de medicamentos tan sencillos y elementales como el bicarbonato sódico en el tratamiento de estas arenillas. Conociendo la gran diferencia entre la solubilidad del ácido úrico y la solubilidad del urato sódico, una consecuencia se imponía y esta era el intento de transformar la capa superficial de los cálculos de ácido úrico en urato sódico, cambiando la reacción del medio en que estos cálculos estaban siempre bañados, de ácida en neutra o ligeramente alcalina, mediante la administración oral de alcalinos. Por aquella época leí un trabajo de Bibus, de Viena, en el que señalaba para el tratamiento de estas arenillas y de los cálculos de ácido úrico la administración de citratos, para los que recomendaba en primer lugar zumo de limón, ingerido en cantidades relativamente grandes a lo largo del día».

«Recuerdo la primera enferma con un cálculo que le llenaba prácticamente la pelvis renal y que normalmente tendría una clara indicación operatoria en aquella época, no tan remota [...] El estado general de esta paciente era no demasiado bueno y pensé que era absolutamente aconsejable iniciar en ella un tratamiento con zumo de limón, incrementado con un simple medicamento a base de bicarbonato y citrato sódicos. No abrigaba demasiada esperanza en cuanto a la posible disolución del cálculo, pero la enferma iba a ensayar aquel tratamiento y volver a los dos meses para ser observada de nuevo y, si su estado general había mejorado, probablemente para ser intervenida. La enferma se fue encontrando mucho mejor tras aquellas tomas de zumo de limón y de alcalinos y sus molestias renales y su hematuria fueron lentamente disminuyendo. Tal mejoría y otras circunstancias personales de la enferma, se opusieron a un nuevo viaje desde su ciudad de Castilla la Vieja. Se encontraba tan bien con aquel tratamiento que no lo interrumpió durante un año, hasta que vino a decirme que se encontraba perfectamente. La exploración urológica demostró la total desaparición de su cálculo. No tenía el más pequeño síntoma renal y la hematuria había desaparecido por completo, siendo negativo el estudio microscópico del sedimento. Otra nueva enferma, al poco tiem-

po, me produjo la misma sorpresa e idéntica satisfacción. En vista de ello presenté en 1958 este hallazgo ante la Asociación Española de Urología, pero en parte porque los resultados eran tan sorprendentes que requerían mayor confirmación en nuevos casos, no publiqué en seguida aquellas observaciones. Sin embargo, al cabo de poco tiempo, De Vries, en Israel, por una parte, en 1959, y Bibus, de Viena, por otra, en 1960, publicaron independientemente uno de otro sus propias observaciones, no sobre mejorías como antes había hablado el vienés, sino en cuanto a la total desaparición de cálculos renales de ácido úrico. Fue entonces cuando, con un pequeño retraso, publiqué mis propios casos en la Revista Francesa de Urología. Desde 1960, la indicación operatoria de los cálculos puros de ácido úrico es muy discutible y, en vez de ser una norma como antes era, es hoy día una excepción».

Mención aparte merecen sus trabajos sobre los cálculos papilares. Luis Cifuentes valoró nada más conocerlos los importantes trabajos que Randall había realizado en los Estados Unidos a lo largo de los años treinta. Como resultado de ellos, identificó las características de los cálculos papilares, así como su típica imagen radiológica, conocida con el nombre de «placa de Randall.» Randall postuló el origen intersticial de los cálculos papilares, que después se recubren de otras sales, de oxalato, etc., hasta adquirir su forma cóncava de color blanquecino, debido al fosfato cálcico, y su aspecto exterior negruzco, a consecuencia del oxalato cálcico. Durante años, Luis Cifuentes investigó este tipo de cálculos, confirmando los hallazgos de Randall. Pero pronto fue más allá de él, al advertir que el material presente en su concavidad era papila renal fosilizada, de tal modo que al microscopio de barrido era posible identificar estructuras tubulares y vasculares, perfectamente conservadas. De este modo, confirmaba de forma inequívoca el origen parenquimatoso de los cálculos papilares.

Basta lo dicho para demostrar cómo aquél discípulo del urólogo Pedro Cifuentes, del cirujano Plácido González Duarte y del clínico Carlos Jiménez Díaz, se fue convirtiendo con los años en maestro él mismo. Maestro de los muchos que lo reconocen por tal y se tienen por discípulos suyos. Y, como gran maestro, Luis Cifuentes fue capaz de acabar aprendiendo de sus propios discípulos.

En una de sus glosas, titulada *Espejo de educadores*, Eugenio d'Ors escribió: «Mal maestro, quien, en asignatura de autoridad, no es discípulo de los combatientes. Mal maestro, quien, en asignatu-

ra de fantasía, no es discípulo de los poetas. Mal maestro, quien, en asignatura de laboriosidad, no es discípulo de los artesanos. Mal maestro, quien, en asignatura de bondad, no es discípulo de su madre. Mal maestro, quien, en asignatura de alegría, no es discípulo de sus discípulos». Laín Entralgo elaboró, a partir de esa glosa de Ors, este otro apotegma: «Mal maestro, quien, en algún momento de su vida, no sabe ser discípulo de sus discípulos; mal discípulo, quien, en algún momento de su vida, no sabe ser maestro de sus maestros.» Así es y así debe de ser. No es buen discípulo el que no acaba convirtiéndose en maestro, y viceversa. Luis Cifuentes fue buen discípulo de excelentes maestros. Y pronto se convirtió en maestro él mismo, que al ir sobre los hombros de quienes le ayudaron a progresar, pudo ir más allá de ellos, y de ese modo convertirse en maestro de sus maestros. Y maestro también de sus discípulos.

¿Maestro en qué? Maestro en muchas cosas de la vida, pero en el campo profesional, maestro en urología. Luis Cifuentes ha sido un gran urólogo. Y ello, en las dos vertientes de esta disciplina, la clínica y la científica. En este orden preciso, porque Luis Cifuentes fue un médico de pies a cabeza y se vio a sí mismo siempre como servidor de sus enfermos. El centro no lo constituía el saber, ni la ciencia, sino el cuidado y la curación de los enfermos. De ahí que se viera, sobre todo, como un clínico. Pero como no podía ser menos, la clínica le llevó a la investigación científica. La ayuda al enfermo exige depurar cada vez más nuestros conocimientos, investigar. De ahí que el clínico se tornara en investigador. Luis Cifuentes fue un gran clínico y, por exigencia de su propia actividad clínica, un concienzudo investigador. Su camino fue de la clínica a la investigación, y de la investigación a la clínica.

Pero no sólo fue un excelente clínico y un magnífico investigador. Luis Cifuentes fue una gran persona. Permitidme que destaque de entre todas sus cualidades, que muchos de vosotros recordáis, la del entusiasmo. Siempre me maravilló el entusiasmo con que hablaba de la cristalografía de los cálculos renales. Pero es que el entusiasmo fue una constante a lo largo de su vida. De su querido maestro y amigo, Xavier Zubiri, aprendió él, como también lo hice yo, la etimología de la palabra entusiasmo. Zubiri la repetía con frecuencia. El término griego *entheusiasmós*, procede de la raíz *theós*, Zeus, Dios, de donde *én-theous* significa el que tiene a Dios dentro de sí, el endiosado, inspirado. Zubiri solía añadir otro término griego que

también conocía muy bien Luis Cifuentes, y que de nuevo puede aplicársele con toda justicia, el de «energúmeno», que significa poseído por los dioses. Aristóteles definió a Dios como acto puro, es decir, pura *enérgeia*. Quien está en pura *enérgeia*, en pura actividad, es algo así como un sujeto divino. No es un azar que el entusiasmo haya pasado a significar en nuestra lengua un estado de contagiosa energía y actividad.

Quiero acabar volviendo al principio. Al comienzo de su discurso de ingreso en esta Real Academia, decía Luis Cifuentes que se veía a sí mismo «inclinado hacia un futuro que durará lo que Dios determine, dueño único de nuestra vida.» Esa duración ha tocado a su fin. Pero no del todo. Nos queda en el recuerdo. Y nos queda no sólo en él. Nos queda lo que nos ha legado. Ya lo veíamos. La vida es entrega de modos de estar en la realidad. Luis Cifuentes recibió una importante herencia de sus maestros, la incrementó muy sustancialmente a todo lo largo de su vida y nos la ha transmitido a todos los que de una manera u otra somos sus continuadores. Recibió el testigo, supo conservarlo e incrementarlo y nos lo ha legado en herencia. No le queda sino recibir la recompensa. Luis Cifuentes pudo repetir aquellas palabras de Pablo de Tarso: «He competido en noble competición, he llegado a la meta en la carrera, he conservado la fe. Y desde ahora me aguarda la corona de la justicia».

INTERVENCIONES

Prof. Sánchez García

Estoy en una particular situación para hablar de D. Luis en este momento después de la magnífica charla y sentida que acaba de pronunciar nuestro querido colega. Voy a ser muy breve; conocí a D. Luis allá por la década de los cincuenta, cuando yo era estudiante de Medicina, con ocasión de unas oposiciones a la Cátedra de Psiquiatría que se celebraban en la Sala de Grados del viejo San Carlos en la calle de Atocha.

A estos acontecimientos nos gustaba asistir a los estudiantes de medicina, nos divertíamos en ellos; eran los años en que todavía se celebraban las famosas trincas durante las oposiciones a cátedra, las famosas trincas, y ello nos divertía y enseñaba al tiempo. Allí me

di cuenta por vez primera del talento que gastaba D. Luis, entonces jefe del desaparecido Servicio de Urología del Hospital de la Princesa, como aquí se ha señalado de una manera elegante.

Después supe de él en tres importantes ocasiones. La primera, allá por los años 60, cuando intervino quirúrgicamente a un cercano pariente mío, utilizando una técnica urológica poco usual entonces, a la que se ha referido también nuestro colega. No sé si fue el primero en ponerla en práctica en España, pero lo hizo con maestría y éxito. Se trataba de la resección transuretral de la próstata, que ahora todos conocemos, particularmente los urólogos, como RTU. El éxito fue espectacular; la lección para mí, estudiante de medicina, fue realmente inolvidable. La segunda, me impresionó cuando supe estudios suyos sobre los cálculos renales de ácido úrico; entonces me llamó la atención que un clínico de éxito social y profesional se ocupara en profundidad de los cálculos renales, recurriendo para ello a colaboraciones destacadas de científicos y a técnicas bioquímicas propias de un investigador de casta. Aquí ya se ha dicho que de hecho efectivamente lo era. Me encantaba oírle hacerse preguntas al respecto, y solía decir: «Pedro, los experimentos nunca fallan, quien falla es el investigador, que no hace la pregunta adecuada». La tercera, fue con motivo de mi ingreso en esta Real Academia Nacional de Medicina el 1 de diciembre de 1987. D. Luis, junto con D. Antonio Gallego y D. Amador Schüller, tuvo la generosidad de suscribir la presentación que me abrió las puertas de esta secular institución, templo sagrado del saber médico.

De él entonces yo escribí: «D. Luis Cifuentes, urólogo eminente, que investiga en la frontera de la ciencia hasta que se marchó de este mundo». Además supe que, lo mismo que yo, era un apasionado amante de Gredos, y que allí le gustaba aflorar veneros del fondo de la tierra en su finca que amaba tanto. En más de una ocasión de oír decir, mientras hablaba con mi maestro D. Benigno Lorenzo Velásquez, lo mucho que ambos compartían este amor para dar a luz cauces e ideas, hermosa lección ésta que yo jamás he olvidado. Todavía hoy recuerdo su última intervención en esta Academia el día 21 de marzo de 1995. Recién dada a luz la primavera, un magnífico cirujano español D. Plácido González Duarte, magnífica charla ésta, como todas las suyas y generosa con el colega, en este mundo que vivimos, donde la generosidad, esta hermosa virtud, no abunda tanto como debiera. Ahora recuerdo que un amigo mío solía decirme: «Pedro, me

agrada saber que hay personas que hablan bien de mí, sobre todo cuando no estoy presente». Así era D. Luis.

Desde entonces no volví a gozar de su presencia, aunque sí que pregunté muy frecuentemente por él. Eché de menos su señorío y su abierto talante, ahí quedan los veneros, sus cauces y sus verdades.

Descanse en paz. Muchas gracias.

Prof. Cruz Hermida

El viejo Cicerón dejó escrito que la vida de los muertos está depositada en la memoria de los vivos. Siguiendo la máxima, yo quisiera esta tarde sumarme al homenaje póstumo al Dr. Luis Cifuentes Delatte activando mi memoria para revivir el recuerdo a su persona. Lo hago recreándome en una fecha algo lejana, mayo de 1989. Como ginecólogo, siempre he creído en los nexos de unión que nos ligan con los urólogos, y por ello, me llevó en la primavera de 1989 a pedirle al Dr. Cifuentes su firma y presentación a una vacante de numerario en la Academia.

Su prestigio como uno de los grandes urólogos españoles no fue obstáculo de distanciamiento, sino puente de acercamiento afable y asentimiento a mi solicitud. Me citó en su casa de la calle Monte Esquinza, y allí no solo me honró con su firma de padrinzago, sino que convirtió en grata hospitalidad y fabulosa conversación lo que en principio era mero y rápido trámite preceptivo. Hablamos durante largo tiempo en relajado coloquio de lo humano y de lo divino, siguiendo por mi parte el consejo de Baltasar Gracián, que decía trata siempre con quien se pueda aprender. Me impresionó el declarado orgullo que sentía por su padre, el Dr. Pedro Cifuentes Díaz, comentándome que los conocimientos adquiridos por su progenitor en París junto al Prof. Joaquín Albarrán los introdujo en España centrados en el manejo de la cistoscopia y la cateterización individual de los uréteres, lo que influyó grandemente en su futura dedicación a los medios urológicos endoscópicos, en los que D. Luis fue aventajado paladín y ejecutor tras redondear su formación en las universidades americanas de Iowa y Michigan.

Tras suscitarse el tema de las cistitis abacterianas de la mujer menopáusica y referirle que estaba dirigiendo la tesis doctoral sobre esta temática a un joven colaborador mío, me obsequió con un ejemplar de su libro escrito en 1947 sobre cistitis y cistopatías, en

el que con sentido premonitorio, apuntaba la patogenia de estas cistitis, que muchos denominamos de orinas claras, a la metaplasma de la mucosa del epitelio vesical por la decadencia hormonal estrogénica. De aquel, para mí, imborrable encuentro, surgió un intercambio de colaboración. Le invité a participar en un curso que organicé en mi servicio del Hospital de la Cruz Roja con una lección magistral sobre incontinencia urinaria femenina en la que se discutieron los controvertidos puntos de fruncimiento de Kelly de la vejiga, y él me correspondió abriéndome las puertas de su servicio en la Fundación Jiménez Díaz para hablar sobre los divertículos uretrovaginales.

Fue D. Luis Cifuentes un hombre afable, culto, con gran bagaje humanístico. Lo mismo me hablaba sobre los cálculos renales que sobre Vesalio o Galeno y sus descripciones de las enfermedades de los riñones, como de la uromancia o adivinación de las enfermedades a través de los exámenes de la orina, técnica diagnóstica en la que por cierto él creía muy poco. Su delicado estado de salud en los últimos años me privó de continuar con los gratos contactos personales, pero en mi memoria ha quedado un sedimento de recuerdo y admiración a la persona que un lejano día me abrió con generosidad las puertas de su afecto y amistad.

Descanse en paz. Muchas gracias.

Prof. Díaz-Rubio

No hay nada realmente que añadir al magnífico discurso del Prof. Diego Gracia. Un discurso necrológico lleno de contenido porque realmente la obra de D. Luis Cifuentes está llena de contenido, y por tanto, una obra densa y digna de ser elogiada en una Academia. Yo desde muy jovencito empecé a escuchar el nombre de Luis Cifuentes, y era una especie de cuento que uno iba incorporando a su vida de personajes que parecían que no existían.

Mi padre, entonces en Cádiz, era un profundo enamorado de la amistad y tenía pasión por los amigos, y dentro de esos amigos estaba Luis Cifuentes, que era compañero suyo de curso, que habían convivido en el viejo San Carlos, habían sido alumnos internos con D. Carlos, y posteriormente médicos internos. Recordaba como algo verdaderamente fantástico que nos contaba a todos los hermanos, como recién acabada la carrera, hizo un viaje en coche, que sería

de su padre, porque ya conducía. Todo eso a nosotros nos parecía mágico, como un cuento que nos contaban las madres para dormir.

Con el paso del tiempo uno llegaba a ver que la figura de D. Luis Cifuentes existía, era real, hasta que en el año 1961 que yo llegué a Madrid tuve la fortuna de que esa amistad que tenía mi padre con él, empecé yo a cultivarla con su hijo Luis en la Facultad de Medicina. Eramos compañeros de curso y a partir de ahí pude conocer a D. Luis Cifuentes, y vi que aquel hombre que era aparentemente mágico era verdad, un eminente científico y sobre todo una persona que había conseguido hacer una familia verdaderamente excepcional. Familia que me dio su amistad, que me llenó de su amistad y me hizo comprender como también en Madrid a los 18 ó 19 años podía ser feliz y encontrar un grupo de amigos que hicieran posible reanudar mi vida en Madrid.

Además, me encontré con algo sorprendente de donde yo venía, de Sevilla y previamente de Cádiz, en una época en los años 50, donde yo había crecido y en donde las manifestaciones culturales eran escasas. Me encontré con un hombre que irradiaba una sensibilidad que transmitía a todos sus hijos, a su mujer, D.^a Irene. Toda esa sensibilidad se veía incluso cuando tocaba el piano, era el descubrimiento de un mundo absolutamente completo. Quería comentar en esta Real Academia la trascendencia de la figura de D. Luis Cifuentes Delatte como urólogo y como investigador. Con la dote de observación que tenía pudo en un momento con una medicina muy complicada y difícil, intuir que podía existir un germen que estaba pasando desapercibido para los expertos, para los microbiólogos, un germen que crecía más despacio y necesitaba otro tiempo y que nadie tenía presente puesto que los cultivos incipientes se tiraban antes de la cuenta. Esta dote de observación es tremendamente importante porque fue capaz de consolidar el concepto de cistitis incrustantes o incrustadas y recordar que esto fue premio Obieta de esta Real Academia Nacional de Medicina en el año 1947.

Además de esta mentalidad científica basada en la dote de observación, me gustaría resaltar algo muy importante en D. Luis Cifuentes Delatte, que fue la pasión por el maestro. Si yo antes hablaba de la pasión de la amistad referida a mi padre, que luego vi de alguna forma compensada con la pasión también por la amistad que el propio Luis Cifuentes tenía por mi padre, es cierto que él tenía una pasión por el maestro desbordante, quizá como tenía una buena parte de la Escuela de D. Carlos Jiménez Díaz, que supo no

solamente llenarla de discípulos, sino también de unos discípulos muy especiales, que verdaderamente tenían el «defecto» de esa pasión por el maestro. Sin embargo, Luis Cifuentes, como un discípulo aventajado se impregnó de todo el mundo científico que rodeó a Jiménez Díaz, a esa medicina científica que estaba brotando nuevamente en España, y obviamente fue capaz de construir una obra digna de admiración. Hace unos días hacía una búsqueda medline de las publicaciones de Luis Cifuentes Delatte, y uno se queda sorprendido de cómo aparece una centena. Esta búsqueda sólo nos da hasta el año 1950-52, y solamente de las revistas que están indexadas en la Biblioteca Nacional Americana, por lo tanto, es solamente una parte de su producción científica muy extensa, que ha sido glosada y elogiada de una forma sumamente importante.

Quiero resaltar esa capacidad de observación, esas dotes de investigador nato, esa mentalidad científica pura y exclusiva en el seno de un gran cirujano, de un gran urólogo; también se ocupó de la urología científica en ese momento de las técnicas más avanzada y que realmente llenó su vida de un contenido científico y también llenó la Academia de lo mismo. Yo quisiera expresar en este momento a la Academia el dolor por la pérdida de tan insigne maestro, tan insigne Académico, y a la familia el sentimiento más profundo de mi persona, y estoy convencido también, ya se ha dicho, de todos nuestros compañeros.

Prof. Durán Sacristán

Quiero felicitar al Prof. Gracia Guillén por la presentación que ha hecho de la necrológica del Prof. Cifuentes, que ha sido perfecta, comedida, exacta, rigurosa, y además, sentida. Con ello, todos hemos recordado que Cifuentes era un personaje en el cual la característica fundamental era su seriedad, su bondad natural y su competencia. Un cirujano que al mismo tiempo era investigador clínico, investigador de laboratorio de un prestigio que pasó a ser internacional. En el año 1972 se presentó y entró en esta Real Academia Nacional de Medicina sobre un discurso sobre los cálculos del riñón, que además fue contestado por Laín Entralgo. Un hombre que entra en esta Academia, se hace contestar por Laín Entralgo y que ocupa el sillón de Alfonso de la Peña, medalla n.º 14, indiscutiblemente entra en la casa por al puerta grande y lo hace con todos

los honores. Este discurso trascendió mucho y algunos hemos tenido en alguna ocasión la oportunidad de escucharla.

Nosotros fuimos con él y con una serie de Académicos a París y allí tuvimos un acto académico en la Academia Nacional de Medicina de Francia, en la cual participó Cifuentes, haciendo un discurso en francés bellísimo, con una excelente pronunciación, que cautivó a toda la gente que estábamos allí, tanto a los que le conocíamos como a los que no. Constituyó una sesión enriquecida enormemente por su discurso en cierta medida, como así se manifestó por los demás Académicos franceses que estaban presentes en el acto. Allí es donde nosotros le tratamos un poco más, porque tuvo más intimidad con nosotros y desde entonces surgió la admiración que siempre he tenido por él. Tenía la costumbre de veranear en Santander, con la gentileza suya y su educación un poco afrancesada y ejemplar, nos invitaron a mi mujer y a mí a pasar una tarde con ellos en el Hotel Real donde se alojaban. Esto se reiteró en varias ocasiones y nosotros tuvimos la fortuna de tratarle allí y de disfrutar de su presencia durante unos cuantos años. Después su enfermedad le ha mantenido alejado de nosotros, pero ha estado siempre presente en la conversación y en el ánimo de todos los Académicos, que a fin de cuentas teníamos conciencia plena que era un heraldo y un lujo de nuestra Academia.

Ahora, en este momento, cuando nos enteramos que estaba declinando y que iba a morir, hemos resucitado muchas veces nostalgias que nos había provocado a las personas que menos le habíamos tratado, aún cuando yo le había tratado en Santander. Allí me contaba cosas relacionadas con su actividad, del tiempo que había estado en Alemania y en Estados Unidos, y los trabajos que había hecho particularmente con los instrumentos relectores, por los cuales tenía una cierta pasión, todos los problemas relacionados con la cirugía de la resección en urología. También nos habló de las andanzas que había tenido por Francia y nos contó muchas anécdotas en circunstancias en las cuales era un placer oírle. Quiero destacar que también le ví apasionado por las personas, recuerdo perfectamente que tenía un entusiasmo loco por Plácido González Duarte, al que yo también admiré mucho toda mi vida, porque era un cirujano puntero y ejemplar en este país. Tuvo predilección por gente muy selecta a lo largo de toda su vida. Yo particularmente creo que con recordar estas cosas no hago otra cosa que suscribir que yo tuve oportunidad de verle y de disfrutarle, y después he te-

nido la pena de no volverle a ver por razones de enfermedad. La verdad es que esto me da un motivo para que a la familia le pueda dar mis condolencias más sentidas, aunque no fui de las personas privilegiadas que por estar en la Clínica de la Concepción o en el Hospital de la Princesa tuvieron la fortuna de disfrutarle de una manera más cotidiana y más frecuente.

Muchas gracias.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Con importante emoción mi recuerdo, las palabras que puedo decir de Luis Cifuentes. Me voy a referir a tres momentos de mi relación con él. La primera fue en el Hospital Larvoisier de París. Se había enterado que había llegado un español para hacer unos estudios sobre fisiopatología ósea; me encontré una nota a los dos días de D. Luis Cifuentes, nos saludamos, hablamos, y desde entonces aprendí muy bien que lo que Luis Cifuentes sería, fue capaz durante toda su vida. En muchas cosas cimentadas por la amistad, no sólo por los conocimientos científicos que tenía de su especialidad, sino de la medicina en otros muchos aspectos. Un gran estudioso de los cálculos renales cuyos trabajos han sido muy bien valorados y siguen siendo valorados dentro de la urología y otros campos, de fisiología, mineralogía... El segundo momento que quiero recordar lo ha significado muy bien el Prof. Durán, la reunión de nuestra Academia con la Academia Nacional de Medicina de Francia, y fuimos el Prof. Cifuentes, el Prof. Durán, el Prof. Gilsanz, el Prof. Espinós y yo y por la parte francesa, cinco Académicos. Gran momento, en circunstancias donde no eran muy frecuentes estas reuniones entre Académicos y Profesores de diferentes países. Aquello abrió a importantes puertas a todos nosotros como también a ellos, y yo lo tengo en vivo recuerdo, al igual que el Prof. Durán.

El tercer momento que he de comentar es mi nuevo encuentro con D. Luis Cifuentes en el antiguo Hospital de la Princesa, en la glorieta de San Bernardo, donde su padre D. Pedro Cifuentes, era el decano y director. Por una serie de enfermedades, yo estaba entonces en el Hospital Clínico, me llamaron porque el Prof. Albasanz se había quedado sin ayudantes, Académico de esta casa, médico internista, cardiólogo, hombre eminente. Era una época donde había escasez de médicos internos, y fui yo con mucho gusto, tuve el

permiso correspondiente del Hospital Clínico. D. Luis Cifuentes llevaba el servicio de urología de la Princesa y yo estuve allí casi año y le conocí muy bien. En todos estos momentos conservé su sabiduría, su ánimo de trabajo, su entusiasmo, su gran preparación, sus dotes de colaboración con todas las personas que a él se dirigía. Tenga pues la familia de D. Luis Cifuentes mi recuerdo muy afectuoso en este momento emocionante para mí, importante para poderles recordar, felicitar por haber tenido a D. Luis Cifuentes, magnífico médico y profesor.

VIII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 12 DE ABRIL DE 2005

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

**CONOCIMIENTOS, SABER, SABIDURÍA.
EL VIEJO Y EL MAESTRO**

***KNOWING, KNOWLEDGE AND WISDOM.
THE ELDERLY AND THE MASTER***

Por el Ilmo. Sr. D. JOSÉ DE PORTUGAL ÁLVAREZ

Académico Correspondiente

Resumen

Se analizan los conceptos de conocimiento, saber y sabiduría, mediante fundamentos psicológicos y consideraciones propias, aceptando los conocimientos como consecuencia inmediata de la información, el saber cómo el procesamiento intelectual de tales conocimientos y la sabiduría como una categoría superior de contenido intelectual y moral. Perfilados estos conceptos se aplican a la realidad actual del viejo y el maestro.

Ábtract

The concepts of knowing, knowledge and wisdom are analyzed through one s own respect and psychological foundations, accepting knowing as the consequence of immediate information, the knowledge as the elaborated intellectual concepts of knowing and wisdom as a superior category of intellectual and moral content. Outling these concepts, they are applied in real life through the elderly and through master.

La estructura cognitiva de la mente humana supone un complejo proceso de construcción sometido a aportaciones y cambios continuos, hasta conseguir la ganancia mas cualificada de la Naturaleza: el pensamiento humano. Y el estímulo nutricional para este desarrollo lo proporciona la información, que provee a la mente humana de datos nociones y conceptos que se aceptan según el interés o la curiosidad y se acumulan en la memoria codificados para hacer posible su recuperación.

Los conocimientos adquiridos constituyen la materia prima del saber, que, en esencia, consiste en el procesamiento intelectual de tales conocimientos, un proceso dinámico que se inicia con la activación del deseo natural de saber y se continua con la utilización de tres piezas primordiales de la mente humana: la sabencia, la inteligencia y la experiencia, es decir respectivamente, el bagaje de saberes anteriormente establecidos (sabencia) la capacidad mental de entender los conocimientos, de relacionarlos e integrarlos (inteligencia) y el resultado acumulado de la utilización de aquellos saberes (experiencia).

Los conocimientos son elementos estáticos, almacenados y su función primordial es especular, es decir, permiten reconocer en el exterior el contenido de esos conocimientos, por el contrario, el saber es un proceso dinámico que utiliza, obviamente, el substrato de los conocimientos, pero no se queda en el simple reconocimiento, sino que incorporándolos a un tejido de saberes propios, los analiza, los interpreta, los relaciona y los integra y es capaz de adaptarlos a situaciones nuevas. En resumen, los conocimientos se adquieren y permanecen estáticos aunque son renovables, mientras que el saber se elabora en un proceso dinámico constante. Si al hombre que posee buena dotación de conocimientos se le llama erudito, con más aproximación semántica al que dispone de saber se le debería llamar sabio.

Sin embargo, parece excesiva la denominación de sabio para aquel que dispone de saber pero no llega a tener sabiduría. Sabio, en la mas común de las interpretaciones, significa tener sabiduría y ésta puede entenderse según dos categorías: una que puede denominarse sabiduría parcial o limitada, que supone el saber lo mas y de la mejor manera de algo concreto y específico (a ella corresponderían el físico, el biólogo, el matemático, el historiador, etc., sabios en sus respectivas ramas del saber) y otra que se refiere a un saber mas amplio, difuso, no limitado y vital, que el buen sentido de

la gente suele llamar sabiduría de la vida. A esta última categoría vamos a dedicarnos desde ahora con la denominación excluyente de sabiduría.

La sabiduría es una condición superior que se adquiere a través de la vida en un proceso constante de filtración hacia el futuro de las experiencias que se tienen en cada instante de la vida, dejando una rica sustancia vital de sensaciones y saberes integrados que hacen al hombre más sensato en el saber y más justo en lo moral. El hombre sabio ha procesado su vida y conoce su contenido y su sentido, comprende al ser humano en sus múltiples circunstancias y es capaz de opinar rectamente en cuestiones del hombre y de la vida.

Pero la sabiduría no se queda en el saber o saberes de la vida, sino que tiene además una dimensión más importante: su contenido moral. La sabiduría, esta sabiduría de la vida, no se hace solo elaborando y poseyendo saber, sino también, y quizás sobre todo, con la aprehensión de normas y comportamientos morales. Es pues, una sabiduría que tiene más de ética que de sapiencia y su influencia debe ser mayor en el comportamiento moral que en la estrategia práctica. La sabiduría enriquece la técnica y la ciencia, no tanto aplicando las normas éticas convencionales al uso, como traspasándolas de un sentido reflexivo, íntegro y virtuoso adquirido en el transcurso de la vida y que se proyecta con las tres herramientas de la sabiduría: la opinión, el consejo y el ejemplo.

Dado que el ámbito relevante de la sabiduría es la vida humana, teóricamente toda persona es accesible a ella, pero hay dos tipos que parecen especialmente propicios: el viejo y el maestro. Veamos de qué manera en cada uno de ellos.

El viejo eugérico, aquel que se encuentra entre la edad admitida convencionalmente como comienzo de la vejez y la aparición del deterioro biológico, especialmente intelectual, es un ser que con alta frecuencia se encuentra en buenas condiciones de recibir información, establecer conocimientos y desarrollar saber. Este anciano puede seguir utilizando y aprovechando todos los medios de información con parecida eficacia con que lo hacía antes e incluso incorporarse a otros nuevos y sigue siendo capaz de sentir asombro y curiosidad. Que duda cabe que con los años la capacidad de asombro se satura y se serena, pierde algo o mucho del resplandor fulgurante de la juventud, pero siempre queda, al menos, un rescoldo capaz de encenderse con algo desconocido y sorprendente. Cuando

este rescoldo se apaga, languidece el deseo de saber y la vejez empieza a apoderarse de la vida del hombre. El hombre que ha perdido la capacidad de asombrarse ha perdido la vida, dijo tajantemente Simone de Beauvoir y no es otro el sentido de la respuesta que Bernard Shaw dio a la pregunta de cuál era el estímulo que a sus años le permitía seguir con una fecunda producción intelectual, contestando escuetamente: la curiosidad. Por tanto, en el viejo aunque esté acostumbrado y aun cansado de asombrarse, es posible el destello del asombro, la tentación de la curiosidad y el deseo de saber. Por otra parte, vivimos una época que es rica en acontecimientos sociales, comportamientos humanos, desarrollos culturales, descubrimientos científicos, etc., que incitan constantemente al asombro (a veces a la estupefacción) y al deseo de saber.

Si este punto de partida del saber que es el asombro, es susceptible de mantenerse en el anciano, también lo son los procesos relacionados con la obtención de conocimientos como son la adquisición y codificación de la información, su almacenamiento y su recuperación, si bien tales procesos son tendentes a dañarse con el paso del tiempo, sobre todo los de recuperación que dependen especialmente de la memoria.

La memoria, probablemente la primera víctima de la vejez humana, no se deteriora globalmente ni por igual en todos sus segmentos psicológicos. Los datos experimentales y clínicos son coincidentes al señalar que la memoria a corto plazo que tiene una capacidad limitada de almacenaje (7 bits) y retiene la información desde varios segundos a un par de minutos, sufre escaso o nulo declive con el envejecimiento, mientras que la memoria a largo plazo, que en el individuo sano tiene una capacidad ilimitada y conserva la información durante 20-30 minutos, es la que experimenta mayor deterioro evolutivo. Sin embargo, la alteración de la memoria a largo plazo tampoco es homogénea y global, porque en ella cabe distinguir una memoria reciente para hechos temporalmente cercanos que sí se afecta en la vejez y una memoria remota que incluye conocimientos y habilidades más lejanas en el tiempo y que apenas se deteriora con la edad. En esta memoria remota se incluye el concepto de memoria semántica que es la memoria del conocimiento en general, del mundo exterior y del lenguaje y cuya organización es conceptual, atendiendo al significado y relación de unos conceptos con otros. El declive de la memoria semántica no es acusado con la edad, si bien se enlentece su mecanismo de activación. En con-

clusión, el anciano mantiene casi indemne la memoria a corto plazo, mientras se deteriora significativamente la memoria a largo plazo, concretamente la memorización de los hechos recientes, conservándose casi intacta la memoria remota y en especial la semántica. Por lo tanto, la recuperación de los conocimientos sólo se afecta para los de reciente adquisición, al tiempo que este menoscabo de la memoria reciente puede suponer una rémora para el aprendizaje. Sin embargo, estudios longitudinales recientes han mostrado que la capacidad de aprendizaje sólo experimenta un pequeño descenso con la edad y cuando existe grave deterioro está más en relación con otros factores no cronológicos, que determinan una diversificación de los patrones evolutivos según los individuos.

La inteligencia es el principal activo en la producción del saber y la sabiduría. A partir de los estudios longitudinales de cohortes de los años 80 y 90 se comprobó que el deterioro cognitivo asociado a la edad es a menudo de poca intensidad y se presenta en fases relativamente avanzadas. Por otra parte, estos estudios evidenciaron la multidireccionalidad del cambio cognitivo con habilidades que aumentan y otras que disminuyen. La teoría bifactorial propone la existencia de dos tipos de inteligencia: la fluida y la cristalizada, que integran capacidades diferentes con rendimientos distintos: los de la inteligencia fluida se identifican con el procesamiento de la información y con la capacidad de resolver nuevos problemas, mientras que los de la inteligencia cristalizada son conservar y renovar el saber y las pautas morales a lo largo de la vida. Numerosos estudios indican que las capacidades de la inteligencia cristalizada aumentan o permanecen estables hasta el final de la vida y que su rendimiento esta significativamente influido por la educación, la cultura y la experiencia del individuo. En contraste, las habilidades de la inteligencia fluida decaen con la edad y esta conducta menguante obedece a imperativos biológicos sin que la dotación cultural del individuo pueda detenerla o retrasarla. Con la inteligencia, con la conjunción de ambas, el hombre puede hacerse sabio transformando unos determinados conocimientos en altos niveles de saber, pero el anciano a expensas de su inteligencia cristalizada que supone la cristalización de los contenidos intelectuales, culturales y morales de toda una vida, es susceptible de adquirir esa sabiduría vital, existencial, que es propia del hombre de edad. Porque esta sabiduría es una ganancia asociada a la llegada de la edad tardía, pero no es una ganancia obligada de los años, sino mas bien del contenido de

esos años. La sabiduría se encuentra tras una vida plena y la plenitud de la vida es patrimonio de la vejez. «*Vita est longa si plena est*», dejó escrito Séneca sugiriendo que la vida llena de vida es atributo de la longevidad. Ahora bien, si la vejez no pone la sabiduría, al menos la propone, tejiendo en el hombre, no en todos los hombres, un cañamazo espiritual de serenidad, sensatez, tolerancia, generosidad, comprensión, aceptación, etc., que es basamento de la posible sabiduría. Pero incluso con estos requisitos básicos, traspasados por una vida rica intelectualmente y moralmente virtuosa, se alcanza siempre la sabiduría. En última instancia debemos invocar la actividad de algún don especial, como a modo de gracia, que permite sólo a algunos viejos la posesión de la sabiduría.

Y esta sabiduría que el hombre alcanza en las alturas de su vida, ¿para que sirve? o más concretamente ¿para que sirve en el mundo actual? Sirve, debe servir, para proyectar saber y ética en el pensamiento y la conducta de los demás. El viejo sabio, mas allá de ser capaz de enseñar lo que se puede hacer y como hacerlo (y de esto ya se encargan la ciencia y la técnica) posee la capacidad superior de enseñar lo que se debe hacer. En el mundo actual se da la paradoja de que cada día se pueden hacer mas cosas, pero sabemos menos que debemos hacer, es como si la técnica y la ciencia hubieran ganado terreno a la sabiduría. Véase esta paradoja en cuestiones actuales como el uso de la donación de embriones, de células madre o en determinaciones como en la prolongación de la vida, la eutanasia, la anticoncepción, el aborto, etc., para las cuales, por cierto, se van estableciendo códigos legales y morales pertinentes, pero que en determinados casos y circunstancias dejan resquicios dubitativos en los que la sabiduría del viejo puede orientar lo que se debe hacer. Y mas que en estas grandes cuestiones bioéticas, que tienen ya sus mandamientos, la sabiduría del viejo es aplicable en el suceder consuetudinario de la sociedad actual. En esta sociedad tecnológica orientada hacia la imagen, el consumo, la rentabilidad, la competencia selvática, donde el hombre esta poseído por el «baccerrismo de oro» de el poder, el prestigio y el dinero y en cuya persecución está perdiendo, sin saberlo, su libertad y su felicidad; en esta sociedad actual la divinidad omnimoda es la juventud y el joven su sumo sacerdote. En esta sociedad que adora y necesita al joven por su vigor creativo y productivo, las funciones del anciano como portador de la memoria colectiva, de la transmisión cultural, del lazo intergeneracional, poseedor de saberes y referente moral,

han perdido abruptamente su importancia y no se necesitan. Esta sociedad no precisa la sabiduría del viejo, no aprecia su opinión, su consejo ni su ejemplo, porque piensa que tales actitudes sirven para poco e incluso pueden enlentecer su rápido «turnover». Y, sin embargo, yo creo que en este tipo de sociedad es especialmente útil, sino necesaria, la sabiduría del viejo, porque en su exuberante desarrollo, en su apresurado suceder materialista, surgen constantemente recovecos dudosos que si no se cubren adecuadamente, dejan lesiones importantes en el tejido social. Aquí la sabiduría del viejo, su vieja sabiduría adaptada al momento, aplicada en los oscuros entresijos de la sociedad, puede ser determinante para hacerla mejor, o al menos, enlentecer su deterioro. Era sabio Cicerón cuando en «*De senectute*» dejó dicho que una sociedad que no aprecia la sabiduría de sus viejos es una sociedad enferma aunque se encuentre en vigoroso crecimiento.

Otro personaje que se mueve en el campo del saber y la sabiduría es el maestro. Maestro es, en su definición más elemental, el que enseña, pero bajo esta denominación general el maestro puede cumplir varias tareas progresivas: comunicar, explicar, enseñar y educar. Comunica conocimientos y si es caso los explica, en una labor principalmente narrativa cuyo rendimiento no pasa de ilustrar o instruir, sin llegar a calar hondo en la mente del alumno. El docente enseña cuando además de comunicar y explicar, es capaz de transmitir y generar saber, modificando la mentalidad del alumno. Y finalmente, si sobre todo lo anterior, el docente consigue atraer al alumno a su sistema de pensar y de hacer, transmitiéndole un nuevo modelo de conducta intelectual y operativa, habrá conseguido el mas alto nivel de la docencia que es la educación y se habrá transformado de profesor en maestro, al tiempo que el alumno en discípulo.

Maestro, pues, es el docente que dotado de unas condiciones especiales influye positivamente en el pensar, el sentir y el hacer del discípulo. La primera condición que debe poseer es la de disponer de un rico capital de conocimientos, saberes y destrezas y que todo o parte de este capital sea atrayente y sugestivo para el discípulo. Después el maestro deberá ser generoso y honrado en su magisterio y sentir el deseo de transmitir lo mejor de su contenido intelectual y humano al discípulo, en la ilusión, mas o menos consciente, de continuarse en él, al tiempo que éste adquiere el afán de parecerse al maestro. Estos flujos entre uno y otro, vertiéndose mutuamente, son el fundamento de lo que Platón denominó «*Philia pai-*

dagogike», la amistad pedagógica, la esencia que subyace en la relación maestro-discípulo. El maestro vierte sus conocimientos y saberes en el discípulo cuando le comunica y le enseña y vierte sus valores personales mediante el ejemplo. «El buen maestro ha de ser fuente de ejemplo y saber» dice del maestroescuela un viejo refrán castellano, que puede aplicarse a cualquier nivel de la enseñanza, transportando el mensaje de que la ejemplaridad del maestro facilita la infusión del saber. El maestro lo es, decía Laín, más por lo que infunde que por lo que enseña. Por eso, la relación maestro-discípulo es óptima si es personal y suficientemente asidua para que la infusión de valores se realice de manera continua y progresiva, a veces, incluso imperceptible para el discípulo. Passmore escribe en su conocida *Filosofía de la Enseñanza* que si un maestro es bueno consigue transmitir valores y es muy bueno si lo logra sin siquiera mencionarlos.

Así pues, maestro es aquel que mediante la palabra y el ejemplo genera saberes, organiza destrezas e infunde valores y así debe ocurrir en todos los oficios y profesiones y así lo he conocido yo en la Medicina, concretamente en la Medicina Interna, donde he tenido la suerte de disponer de buenos maestros.

Varios son los aspectos de la Medicina Interna donde puede incidir concretamente la función del maestro, pero en cuatro de ellos yo he sentido su influencia más determinante. Son: la transformación de los conocimientos clínicos en saber médico; la interpretación holística de la enfermedad; la concepción antropológica del enfermo y la aparición de la condolencia en el sentimiento del médico. Unas breves palabras de cada uno.

El médico, de toda la información recibida, conserva en su memoria aquellos conocimientos sancionados por la experiencia o la evidencia, que utiliza habitualmente en su práctica clínica mediante un mecanismo inmediato que consiste en acoplar tales conocimientos al problema planteado. Las manifestaciones clínicas del problema son reconocidas e identificadas en la plantilla mental de conocimientos del médico y las posibles soluciones impresas en ella son utilizadas en el diagnóstico y la terapéutica. Esta conducta mental es frecuente en la clínica y más hoy en una Medicina acuciada por la prisa. Pero en la práctica es posible otro recurso intelectual que deriva del procesamiento científico de los fenómenos clínicos mediante la interpretación fisiopatológica, transformando los conocimientos clínicos en saber médico. El pensamiento fisiopato-

lógico es la base del saber médico y funciona como engranaje de las piezas de conocimientos almacenadas, cohesionándolas y activándolas oportunamente para, en consecuencia, permitir un razonamiento y una práctica de elevadas cualidades médicas. Aprendí de mis maestros que el pensamiento fisiopatológico hace al clínico sabio y le permite el manejo más completo de la enfermedad.

Esta interpretación fisiopatológica de los fenómenos clínicos conduce obligatoriamente a la percepción de la enfermedad como evento total en la naturaleza del hombre. Esta es una enseñanza continuada que ejerce en la clínica el maestro de Medicina Interna y acerca al discípulo a la comprensión holística de la enfermedad. El discípulo clínico, inducido por el pensamiento fisiopatológico del maestro, descubre que la enfermedad, sea cual sea su magnitud expresiva, es siempre universal, afectando a todo el organismo y a toda la vida del hombre. Toda enfermedad es holística y no solo en su amplia concepción antropológica, sino también en su puro sustrato biológico, en su estructura anatómico funcional, cuyo riguroso análisis científico deja ver su carácter de unidad con capacidad de respuesta total. Un curioso clínico del siglo XIX lo expresó con rotundidad: «el cuerpo es un solo órgano y la vida su función».

Esta unidad físico-psíquico-social que es el hombre obliga al médico a manejar una patología esencialmente humana y a conseguir un saber con respecto a ella no reducido únicamente a la vertiente física o científiconatural, sino completado con el conocimiento del hombre como ser mutable en su estado de salud (ser sano, enfermable, enfermo, sanable y mortal) y de las circunstancias que sobre él influyen. Este estudio y conocimiento de la múltiple vertiente humana del paciente y su aplicación en la clínica constituyen el nervio antropológico del humanismo médico cuyo impulso hemos sentido siempre en la enseñanza del maestro.

El maestro clínico siente y deja ver al discípulo su sentimiento de condolencia con el paciente, como la más alta condición de ser médico. El médico, manteniendo su realidad personal, se funde convivencialmente con el enfermo y cada uno a su manera vive la misma vivencia de enfermedad. No puede el médico, por supuesto, convivir la sintomatología del paciente, pero sí entrar en su entraña sentimental y apoderarse vivencialmente de la dolencia moral que su enfermedad le produce y en esta vinculación sentimental está el fundamento de la condolencia. El maestro no puede enseñar al dis-

cípulo a sentir condolencia, porque la empatía no es enseñable, pero puede estimular su desarrollo mediante el ejemplo.

El saber fisiopatológico, la enfermedad holística, la antropología médica y el sentimiento de condolencia, cuatro cuerpos vertebrales en la espina dorsal de la Medicina Interna, que envueltos en la sabiduría ejemplar del maestro suponen la esencia de su magisterio.

¿Existen todavía maestros como aquellos que muchos de nosotros tuvimos en la clínica? La respuesta inmediata debe ser afirmativa porque todos conocemos algunos compañeros que, en la caterva de profesores y domines, se distinguen por sus dotes magisteriales. Pero la afirmación no puede ser absoluta por dos razones que relativizan la vigencia del maestro. La primera se deduce de los cambios que se han producido en el ámbito donde el maestro ejerce su magisterio, y me sigo refiriendo a la Medicina Interna. Como dijimos antes, la Medicina se ejerce hoy apresuradamente en base a patrones de conocimientos y habilidades que se aplican casi automáticamente al problema clínico planteado, sin necesidad de utilizar el saber médico ni el compromiso afectivo. Sin estos requisitos, en una Medicina dirigida principalmente a la obtención de buenos resultados de gestión, el médico puede llegar a ser técnicamente eficaz y el maestro quedar relegado a su mínima expresión. La segunda razón reside en la menor predisposición del médico actual a tener maestros, en parte, porque en el tipo de Medicina que ejerce piensa que no los necesita y en parte por una actitud psicológica del hombre de hoy que infravalora la influencia personal y la ejemplaridad y que se manifiesta en una crisis de la transferencia descendente de conocimientos, saberes y valores morales, desde padres, maestros, educadores, hacia hijos, alumnos, aprendices, en una manifiesta pérdida de la platónica amistad pedagógica entre la persona que enseña y la que aprende, entre el que da y el que recibe. Por tanto, no sólo es hoy menor la necesidad objetiva de maestros, sino también la necesidad personal de tenerlos. Por eso, un expresión tantas veces repetidas de que «ya no existen maestros», podría transformarse, imitando su exagerada rotundidad, en «ya no existen discípulos». Puede que la carencia sea de unos y de otros, pero en definitiva lo que se está perdiendo es el magisterio, ese ejercicio superior en el que participan activa u unitariamente tanto el maestro como el discípulo.

Hoy se puede aprender todo y con mas facilidad que antaño, pero esa esencia intelectual y moral que rezuma el maestro y que

impregna la mente y la obra del discípulo, sólo puede adquirirse si éste se introduce fervorosamente en el magisterio de aquél. Ciertamente esto no es tan frecuente como antes, porque el tiempo ha introducido cambios que afectan gravemente al magisterio. Pero yo creo que la específica relación maestro-discípulo, una relación tan fecunda, tan gratificante, tan humana, no puede borrarse por completo de los mecanismos de relación entre personas. Por otra parte, el cambio no significa desaparición sino todo lo contrario: la posibilidad de que aparezcan nuevas perspectivas, nuevas opciones, nuevas formas y maneras y en esta posible nueva onda del cambio, pueden emerger del olvido el viejo sabio y el maestro porque les seguimos necesitando para saber más y ser mejores.

INTERVENCIONES

Prof. Sánchez García

Quiero felicitar al Prof. Portugal por esta charla de fe, esperanza y caridad que no abunda tanto hoy día y que tanto necesitamos. Realmente me ha encantado, creo que el canto al maestro es absolutamente una cosa necesaria, y año a año se va perdiendo. Hace poco estaba en mi pueblo y un quinto mío me dijo que no había hombres como su padre, ni como el mío, y probablemente lo que no hay son discípulos de maestros por las circunstancias de la vida. Voy a hacerle dos preguntas muy breves; primero, se acostumbra a decir en Castilla que hay personas casi analfabetas que no estudiaron más que la primaria, pero que tienen una grandísima sabiduría, ejemplos yo los conozco. La pregunta que te quiero hacer es ¿esta gente que es casi analfabeta, que es poco culta, pero que tiene esa sabiduría, pueden considerarse sabios? La segunda pregunta, te has referido ocasionalmente al libro de *Senectute*, me interesaría saber particularmente si existe alguna traducción bien hecha al español porque me gustaría tenerla. Tercera pregunta, en la vida, has referido también en la memoria cercana y lejana, la remota, pero hay una cosa que a mí siempre me ha sorprendido profundamente. Hay cosas en la vida que uno recuerda siempre, por ejemplo, si a uno le picó una víbora cuando tenía ocho años y sólo recuerda eso de un año determinado, ¿por qué se recuerdan ese tipo de cosas?

Prof. Antonio Campos

Yo quiero felicitar al Prof. Portugal por su brillante intervención y quiero decir que intervenir tras una conferencia como ésta es muy difícil, porque al no haber podido leer el texto es difícil saber si lo que uno va a comentar puede quedar explicado con la lectura ya más sosegada después de una intervención. Yo quiero hacer dos comentarios. En primer lugar, se ha hablado sobre la sabiduría general, esa sabiduría que se puede tener y que el anciano, el viejo se ha dicho, puede ser depositario de ella, y se ha hablado también de la divinidad de la juventud en el momento presente. Yo creo, y quiero hacer ese comentario, que ni la juventud hay que divinizarla ni la vejez tampoco. A mí me parece que en todo acto de sabiduría general como en la del magisterio, la del maestro, hay quizás siempre una actitud terapéutica, formativa, de transmitir eso que se sabe para mejorar algo, para en alguna medida superar o transmitir un conocimiento que sirva al que lo oye y al que lo conoce. En ese sentido creo que no sería malo recordar algo que desde que era estudiante de Medicina yo tengo siempre muy presente, que es para mí la mejor definición de lo que es el médico, que afirmaba y postulaba D. Pedro Laín, el médico es un posibilitador de esperanzas.

Yo creo que si la sabiduría y el magisterio tienen que existir es porque van a hacer posible esa esperanza. Por eso, la sabiduría de un hombre anciano que no sea capaz de transmitir ilusión, entusiasmo y esperanza, puede ser una sabiduría pero no sé si es una sabiduría que a lo mejor merecería la pena que no quedase demasiado expuesta al conocimiento de los demás; esto es una reflexión personal que a lo mejor no tiene ningún otro valor más que ese. Y en relación con el magisterio yo quisiera hacer también un comentario. Cuando opositábamos en esas larguísimas oposiciones de seis ejercicios que hoy día ya no existen, en el ejercicio de la memoria repetíamos también a a veces algunas frases y algunas ideas que habíamos leído en los libros, muchas veces también de D. Pedro Laín. Yo recuerdo especialmente cuando nos citaba D. Pedro y nos decía en sus textos que el maestro es aquel que sabe encarnar la ciencia que cultiva; y él lo decía, la física en un físico, la cirugía en un cirujano. El problema del maestro es si se cree lo que dice, el problema del maestro es, a mi juicio hoy, si el maestro está convencido de que lo puede ser, si cree realmente, si encarna en él esos valores que pretende transmitir. A mí me parece que en muchos casos lo que existe es un divorcio, una

esquizofrenia, entre lo que se quiere decir que se es y entre lo que realmente se cree, y éste es para mí el comentario que quiero hacer sobre el significado de la sabiduría del maestro y su existencia y su presencia en el momento presente.

Prof. Sánchez Granjel

Mis primeras palabras son de felicitación al Prof. Portugal porque ha pronunciado una bella lección y bellamente leída. Creo que es excesivamente optimista tanto en la valoración del anciano como concretamente ya en el magisterio. Respecto al anciano, yo le diría que ya hace unos años lo he tenido que dejar por otras cosas, me dediqué a elaborar una historia de la vejez. Usted ha citado a Cicerón y a Senectute; yo le recordaría de un texto platónico la pequeña charla entre Sócrates y Céfalo, noble ateniense de edad avanzada, tiene un grupo de amigos de su misma edad y ahí se ven claramente las dos actitudes que van a mantenerse claramente a lo largo de la historia: la del anciano que acepta su ancianidad y la del anciano que no acepta su ancianidad. La proporción es casi de diez a uno a favor del que no acepta la ancianidad. A lo largo de la historia esto se ha acentuado, de tal modo que en el momento actual en que hay un predominio social del anciano, el número de ancianos es cada vez mayor, es decir, es una minoría mayoritaria en el momento actual, la depreciación social del anciano es muy superior a la de épocas anteriores.

Yo le pondría un ejemplo a medio camino que lo estudié con mucho cuidado, siglos XVI y XVII en la España de los Austrias. Escribí un libro sobre el anciano en la España de los Austrias, y se repite lo que se ve en el mundo antiguo, es decir, cómo el anciano pretende sobrevivir, mantenerse en el mundo en que está, y cómo la generación siguiente lo está acorralando. Yo en ese aspecto soy totalmente pesimista y a los avances técnicos actuales cada vez a mayor velocidad, hacen que el anciano se sienta más desarraigado y uno muchas veces no acaba de entenderlo. Tengo una experiencia personal, tengo unos nietos entre los quince y los veinte años y los veo hablar de lo que les interesa, la técnica, la informática y emplean un lenguaje que yo un día les dije que no entendía una sola palabra, yo me siento desarraigado del mundo porque no lo entiendo y lega un momento en que no quiero entenderlo.

Con respecto al magisterio, yo le diría que también soy pesimista. Yo tuve un gran maestro, y creo que no tengo casi ningún discípulo.

Prof. Rodríguez Rodríguez

Yo creo que muchas cosas podríamos hablar después de lo que ha dicho el Prof. Portugal Álvarez, pero me voy a decir a cosas muy concretas, porque como decía el Prof. Campos habría leer sin desasosiego el texto. De siempre ha habido, como decía el Prof. Sánchez Granjel sociedades y culturas senatoriales, otras no, la lucha ha sido siempre y seguirá siendo. Pero yo tengo un concepto del viejo tal vez distinto. Naturalmente que la alteración de la estructura o la función es un estado de salud y muchas veces coincide con el anciano, pero no quiere decir que un niño no esté enfermo, pierde la condición de salud en una alteración de la estructura o de la función. Yo creo que el viejo es aquel que pierde o que tiene otro dominio, otra limitación de la condición y la participación, que también cronológicamente se da con más frecuencia en el anciano, y eso es lo que condiciona la vejez, esa disminución de capacidad de adaptación que tiene de ser adulto a ser viejo, eso es lo que le hace viejo, no otra cosa. En cuanto a lo que ha dicho fundamentalmente del maestro y del viejo, yo creo que es distinto. Normalmente se dice que un maestro lo es cuando tiene discípulos. Los posibles discípulos se pueden tener después de muerto. Una cosa es ser y otra reconocer a un maestro, se le reconoce por los discípulos cuando el maestro se hace mayor. Yo creo que nadie duda probablemente que Carmen Laforet, cuando escribió *Nada*, hizo una innovación tremenda en la literatura y ha sido una verdadera maestra de la literatura española, pero Carmen Laforet no era vieja cuando escribió *Nada*, por eso una cosa es ser, otra cosa es reconocer, otras cosa es ser viejo y otra cosa es ser maestro, lo cual no quiere decir que la experiencia o la innovación sean necesarias para ser maestro. Esto son divagaciones que se me ocurren, y quiero agradecer esta conferencia porque nos ha hecho qué pensar.

Prof. Poch Broto

Yo quiero felicitar al Prof. Portugal en primer lugar porque ha sido una charla hermosísima y muy sugerente, y además me siento

particularmente unido al Prof. Portugal en el recuerdo de uno de los grandes maestros de la medicina española que hemos compartido, el Prof. Díaz Rubio, quizás uno de los más brillantes pedagogos que han pisado las aulas españolas. El mundo moderno ha cambiado mucho, y yo recuerdo a un filósofo muy cínico, desvergonzado, muy anti-sistema, que puso muy nerviosos a la intelectualidad francesa, que fue Foucol, y habla del médico moderno que es un intermedio entre la industria farmacéutica y el enfermo, y esto es un shock para nosotros que siempre estamos acostumbrados a las hermosísimas y bellas palabras de Letamendi y Laín Entralgo, y los hacedores de esperanza. En gran medida, el diagnóstico por incisivo es realmente esclarecedor y por lo menos escuece y hace reflexionar.

Lo cierto es que en nuestro oficio, que es de los más viejos del mundo, la política ha interferido mucho, de tal manera que incluso los reyes atribuían el poder de curar mediante la imposición de las manos. El hecho se ha agravado, en el sentido de que nosotros procedemos de unos tiempos en los cuales la medicina generaba su propia ética, nosotros procedemos de unos médicos que nacieron en una isla muy pequeña en el Egeo, en la isla de Cos, donde esa profesión autogeneraba su propia ética, sus propios modos de comportamiento y era una especie de casta aparte; hasta que comienza la medicina a ser eficaz en el siglo XIX y nos convertimos realmente en una profesión con un impacto social tremendo, que debe ser socializada, y donde por lo tanto tenemos un impacto económico y político. Ahora podríamos decir que ya no somos un intermediario entre la industria farmacéutica y nuestros enfermos, y podemos moderar y atemperar nuestros modos y nuestros usos éticos; ahora somos un intermediario entre el poder político y nuestros enfermos, y por lo tanto, ya no tenemos esa capacidad para atemperar y para modificar los usos éticos de nuestra profesión.

En estos tiempos, en este momento, cuando nos exigen gestión y eficacia, el que está prometiendo la salud al enfermo no somos los médicos, es la Constitución. En este tipo de medicina proteónica, genómica donde pocas veces se han fundido tantísimas ramas científicas en un mismo punto, que es curar y salvar al hombre enfermo, yo me pregunto, el viejo maestro ¿cómo tiene que evolucionar para convertirse no sólo en el intermediario entre el político y el enfermo, sino en el intermediario entre el político y sus propios discípulos o alumnos?

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Magnífica conferencia nos ha deleitado hoy. Impartida por el Prof. Portugal, es la medicina misma. El contenido esencial de esta ponencia es el esquema de reflexión y conocimiento de tu saber médico. Te has dedicado a la medicina clínica, hemos visto cómo te has hecho médico y cómo desarrollas la medicina. No ha sido fácil para el Prof. Portugal, y me consta, el haber avanzado en la medicina. Enseñaste muchos años en Salamanca como Catedrático de Patología y Clínica Médica. Me ha maravillado oírle porque, como tantas veces pasa, ha superado al que le pudo enseñar algo, y sin duda se supera en su reflexión sobre el saber médico.

IX SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 19 DE ABRIL DE 2005

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

**LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL
Y LOS NIÑOS**
*ENVIRONMENTAL CONTAMINATION
AND CHILDREN*

Por el Excmo. Sr. D. ENRIQUE CASADO DE FRÍAS

Académico de Número

EL ADIPOCITO, CÉLULA PRODIGIOSA
THE ADIPOCYTE, PRODIGIOUS CELL

Por el Excmo. Sr. D MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

Académico de Número

**LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL
Y LOS NIÑOS**
***ENVIRONMENTAL CONTAMINATION
AND CHILDREN***

Por el Excmo. Sr. D. ENRIQUE CASADO DE FRÍAS

Académico de Número

Resumen

La contaminación ambiental es un problema creciente que constituye una preocupación mundial. Encuentra su origen último, principalmente, en la sobrepoblación y en la industrialización.

Sus efectos tienen graves consecuencias para el planeta entero, y muy particularmente para el hombre. Pero es durante la infancia cuando aquéllos son más severos. Los niños reciben contaminantes en mayor cuantía que el adulto, durante más tiempo, y con repercusiones más dramáticas debido a su condición de hallarse en pleno crecimiento y desarrollo.

Respecto a la peligrosidad de los contaminantes, aún queda mucho por conocer, especialmente en lo que se refiere a contaminaciones de bajo grado.

Ábtract

Environmental contamination is a growing problem and a major worldwide concern. Industrialization and overpopulation underlie it's first origins. Contamination has severe outcomes for the whole planet, and very particularly for mankind. But these consequences are specially ominous for childhood. Childs are more extensively exposed to contaminants than adults, for a longer period of time, and the effects are more deleterious as they act during the period of growth and development Concerning the risks associated to contaminants there is still a large paucity of data, particularly as referred to low grade exposure.

I

La legislación belga de 1966 define bastante bien la contaminación ambiental indicando que se refiere a toda emisión de sólidos, líquidos o gases susceptible de dañar la salud humana, la de los animales o la de las plantas, o bien de otros bienes mediante una alteración de ambiente (1). Esta definición es, no obstante, incompleta, puesto que omite en ella contaminantes tan importantes como los ruidos o las radiaciones.

El problema de la contaminación es extraordinariamente importante. No sólo está comprometiendo la salud humana, sino la de todo el planeta en sí. La preocupación que ha suscitado es enorme, y ha promovido declaraciones que reflejaban la inquietud de las más altas personalidades mundiales, incluido el Santo Padre. Fruto de aquella preocupación han sido las múltiples reuniones internacionales tenidas al más alto nivel (4). Lamentablemente, y hasta la fecha, no ha sido posible ejercer un adecuado control sobre el problema. Es más, todo parece indicar que lleva un ritmo creciente. Y ello, porque las circunstancias que la promueven siguen actuando. Haré una somera mención de las más importantes.

No hay duda de que, en una gran medida, el origen del problema se halla en la superpoblación y en sus consecuencias. La población mundial se ha multiplicado a ritmo vertiginoso en apenas un siglo, y ello ha acarreado toda una serie de efectos secundarios: enorme aumento de los desperdicios y de excretas, y necesidad de mucho mayores cantidades de alimentos.

La eliminación de los residuos constituye un problema no menor. A los vertederos llegan toda clase de restos de drogas, de cosméticos, de residuos orgánicos, de hidrocarburos, de aceites, de plásticos, etc. Sus escurrientías llegarán a los ríos, o a las aguas subterráneas tras su filtración, favorecido todo ello por las lluvias. Y sobre aquellos montones de basura vivirán roedores y otros varios animales que contribuirán a su dispersión. En las áreas más desarrolladas se procede al reciclaje y a la incineración de los vertederos, con la consiguiente liberación de gases contaminantes tales el benceno, tricloretileno, mercurio, etc. Especialmente peligrosas en lo que se refiere a la liberación de mercurio son las incineradoras de desechos médicos procedentes de los hospitales.

Con respecto a las excretas el problema queda bastante resuelto cuando las aguas residuales de las poblaciones son tratadas en las

depuradoras de forma adecuada, pero no hay duda de que esto solamente sucede en áreas privilegiadas; en otras muchas la contaminación de los ríos y aguas subterráneas es frecuente. Y aquí no es tan importante la materia orgánica, finalmente biodegradable, sino la gran cantidad de otras sustancias que la acompañan en las aguas residuales.

Mencionábamos, por último, que la sobrepoblación ha exigido producir mayores cantidades de alimentos (4). Esto ha inducido, en primer término, a poner en producción tierras anteriormente baldías a las que ha sido necesario fertilizar con diversos productos, entre ellos, por ejemplo, los nitratos, de una enorme importancia. Arrastrados por la lluvia o los regadíos, estas sustancias llegan a las aguas subterráneas y a los pozos de los que se obtiene a menudo agua para la bebida, amén de ser incorporadas también a los mismos vegetales que fertilizan, de manera que de una forma u otra, o de ambas, terminan por llegar a los humanos. Mas, para la obtención de cosechas óptimas es interesante la evitación de plagas de todo tipo; y de aquí que, y por diversas técnicas, se apliquen sobre los cultivos toda clase de pesticidas (fungicidas, herbicidas, nematocidas, rodenticidas, etc). En USA están registrados más de 875 ingredientes activos en 21.000 productos (5), siendo su consumo anual del orden de los 600 millones de Kg. Sus caracteres químicos son harto diversos: órganofosfatos (alrededor del 50 % del total que se consumen), piretroides, carbamatos, DDT, paraquat, metoxicloro, clordano, atrazina, etc. A hechos como éstos podrían añadirse los derivados de acciones conducentes a aumentar rápidamente la producción cárnica mediante el uso de hormonas u otras sustancias que, evidentemente, alcanzan posteriormente al consumidor. Hace unos años se atribuyeron casos de telarca, que aparecieron en Puerto Rico de forma como epidémica, a la ingesta de pollos a los que para su crecimiento se les habían suministrado estrógenos; el asunto aún no está muy claro, pero hoy se tiende a pensar que aquello fue la consecuencia de una contaminación por ftalatos. Más adelante volveremos sobre esto.

Otros factores que ya no tienen nada que ver con la sobrepoblación, pero que no son menos importantes son los derivados de la industrialización. Tan importante y necesaria para el bienestar humano, como contaminante. La generación de energía y las actividades fabriles producen una enormidad de gases contaminantes que son responsables, como es bien conocido, de acontecimientos tan

importantes como el efecto invernadero o la lluvia ácida (7). Dentro de este capítulo, no pueden dejar de mencionarse los riesgos que implican las radiaciones, especialmente las ionizantes, de las que tenemos trágicas y no lejanas experiencias. No haré mención de las radiaciones electromagnéticas, tan abundantes, dado que su peligrosidad no está constatada claramente (6, 7).

Finalmente, y no se agota con ello la nómina de los factores que incrementan la contaminación, es menester referirse a las ingentes cantidades de productos químicos que para la industria y agricultura se producen, así como a la eliminación de sus desechos. Se calcula que hoy en día se producen más de 87.000 (5), de los que por lo menos 3000 sustancias de este tipo se fabrican en cantidades superiores a una tonelada anual. Los riesgos y consecuencias de ésta producción y eliminación son fantásticos. Las contaminaciones de aguas y alimentos han sido y son de una gravedad extrema. Piénsese solamente en los vertidos de los terribles bifenilos policlorados (BFP), del mercurio, o del DDT.

II

Hemos venido diciendo cómo los contaminantes son agresivos y peligrosos para la especie humana. Ahora añadiré que su peligrosidad es mayor para los niños. Varias razones justifican que las cosas sean así. En primer término, porque los niños se hallan más expuestos a los contaminantes que los adultos. En segundo lugar porque su acción es mucho más prolongada en el tiempo que en los adultos. Finalmente, y éste es un punto trascendental, porque se trata de organismos que están en fase de crecimiento y desarrollo

Durante toda la vida prenatal y todavía en los primeros meses de vida extrauterina el niño se halla en fase de intenso crecimiento, lo que supone una enorme tasa de divisiones celulares, de mitosis, en las que el DNA puede verse interferido (8) por agentes diversos y de lo que pueden resultar gravísimas consecuencias para el sistema inmune, para el control de la carcinogénesis, para el normal desarrollo de los diversos órganos y sistemas, etc. Sería interesante indicar que aunque parece existir una cierta relación de causa a efecto, tal vez más importante que esto sea el momento y el tiempo durante el que el factor contaminante incide. Hace ya muchos años en los que se llegó, incluso, a crear una especie de

mapas en los que se señalaba cual era la alteración a esperar, según cual hubiera sido el momento de la agresión.

Los contaminantes pueden ser extraordinariamente variados y en sus acciones ponen de manifiesto como las alteraciones sufridas por los niños son muy superiores a las sufridas por sus madres. Es el caso de las radiaciones ionizantes. Tras los bombardeos de Nagasaki e Hiroshima el número de niños que se hallaban en fase de gestación y que ulteriormente desarrollaron leucemia fue enormemente superior al que se observó en sus madres u otros adultos. Algo parecido ha sucedido con el empleo del dietilestilbestrol; esta sustancia fue utilizada años atrás con intención de evitar interrupciones del embarazo. La consecuencia fue el desarrollo de adenocarcinomas vaginales en mujeres jóvenes que fueron expuestas durante su vida intrauterina al tomar sus madres el medicamento en cuestión (9, 10).

Otras veces, los agentes contaminantes son responsables de trastornos estructurales que son patentes en el instante del nacimiento. Me refiero a las malformaciones, de cuya realidad tenemos clara constancia. Es el caso de la microcefalias acaecidas tras la irradiación sufrida en los primeros meses de la vida intrauterina, o las amelias o micromelias que se observaron después de haberse administrado a madres gestantes talidomida.

Otras formas de actuación de los agentes contaminantes en estas fases del desarrollo se han puesto de manifiesto en diversas ocasiones, de las que existe trágica constancia. Varias situaciones merecen ser mencionadas.

La epidemia de la Bahía de Minamata. Los vertidos de mercurio al mar desde una fábrica de plásticos en la citada bahía, determinó que por acciones bacterianas fuesen convertidos en metilmercurio; ingerido éste por crustáceos y peces, terminó por contaminar a la población ribereña al utilizar éstos como alimento. Las consecuencias fueron devastadoras. En los niños de las madres que estaban embarazadas se desarrolló un síndrome clínico gravísimo de parálisis cerebral, deficiencia mental y convulsiones.

Algo parecido sucedió, también en Japón, en la llamada enfermedad de Yusho. La ingesta, por parte de madres embarazadas, de arroz cocinado con aceite contaminado con BFC produjo en los niños severas alteraciones ectodérmicas y retraso madurativo

Podrían multiplicarse los ejemplos, como aquellos en los que las madres estuvieron expuestas a BFC o a dioxinas y los niños sufrie-

ron posteriormente un importante retraso madurativo. O el mucho mejor conocido, por frecuente, consecutivo al uso de tabaco por las madres embarazadas: abortos frecuentes, bajo peso al nacimiento, mayor frecuencia de muerte súbita durante el primer año de vida, desarrollo de malformaciones como labio leporino, son algunas de las consecuencias conocidas que la carboxihemoglobina, formada por el uso del tabaco tienen sobre el niño.

Tras el nacimiento, no puede decirse que ya los contaminantes sean menos peligrosos porque la multiplicación celular sea menor, pues todavía el desarrollo de varios órganos y sistemas continúa, como es el caso del cerebro que, al menos hasta el sexto mes prosigue su diferenciación (sinaptogénesis, migración, mielinización, etc.), e igualmente el sistema inmune o los cambios sexuales. Algunos aspectos comentaré más adelante. Lo importante en este momento es destacar que el grado de contaminación del niño es mayor que el del adulto y a ello pueden deberse las consecuencias siempre más graves en aquél.

Decimos que el grado de contaminación del niño, especialmente del lactante, es mayor, proporcionalmente, que el del adulto. El niño come, bebe y respira por Kg de peso, bastante más que el sujeto adulto. Consideremos, simplemente, lo que pasa con el agua. El niño recibe diariamente, en condiciones normales, unos 180 c.c. por Kg de peso. Si el adulto recibiese una cantidad proporcional, percibiría a diario alrededor de 14 litros. Se comprende, en consecuencia, que la recepción de contaminantes llegados con el agua son muy superiores en el niño. Con la alimentación pasa algo parecido. Por añadidura, debe destacarse que el mayor grado de contaminación se halla influido también por otros factores. Sería el primero el que la alimentación del niño pequeño es menos variada que la del adulto, con lo que si alguno de los alimentos que ingiere estuviere contaminado de forma sistemática por ser siempre de igual procedencia (pescados de un lago, manzanas, por ejemplo) el niño recibiría una progresiva y permanente contaminación (11). En segundo término, debe tenerse presente que la absorción desde el tubo digestivo es muy favorable; éste es mucho más permeable de lo que lo es posteriormente, especialmente en lo que se refiere a algunas sustancias, como es el caso del plomo; la biodisponibilidad de este metal es del orden de un 10 % para el caso del adulto y de un 40 % para el caso del lactante. En última instancia, debe indicarse como en el curso de los muy primeros momentos de la vida, la capacidad que el lac-

tante tiene de metabolizar xenobióticos, esto es, moléculas exógenas hidrofóbicas, es muy inferior a la del adulto (12), por lo que su permanencia en el organismo infantil es más prolongada, a lo que, finalmente, contribuye también el que los mecanismos de excreción infantil son menos competentes que lo son los del adulto.

Pero los contaminantes no sólo llegan al organismo por la vía de los alimentos y del agua, sino también por vía aérea y por contacto. Pues bien, igualmente a través de éstas dos vías recibe más contaminantes. Ya hemos dicho que su respiración es más activa que la del adulto, y por tanto los contaminantes transmitidos por el aire resultan más agresivos. En términos de comparación con el adulto, el niño en reposo ventila a razón de 7 ml por Kg de peso y por minuto, mientras que aquél lo hace entre 3 y 5 ml por Kg de peso y minuto. Se comprende que la percepción de contaminantes aéreos sea proporcionalmente muy superior en el niño. En lo que se refiere a la vía transcutánea debe referirse que la piel del niño, sobre todo del niño pequeño, es más permeable que posteriormente; un ejemplo claro lo tenemos en la contaminación con Betadine, que aplicado sobre la piel permite una absorción importante de yodo, de la que se han seguido casos de hipotiroidismo.

De los contaminantes que pueden aportar los alimentos, es necesario hacer alguna referencia a la leche de mujer. Durante años, algunos xenobióticos como eran los BFC, fueron fabricados en grandes cantidades y sus vertidos a menudo llegaron a medios acuosos, donde fueron incorporados a la cadena alimentaria, en los pescados. Ingeridos éstos por el hombre, por el carácter lipofílico de aquellos, fueron depositados en su tejido adiposo donde quedaron de manera permanente, dadas sus dificultades de eliminación. En el caso de la mujer, tales acúmulos fueron produciéndose muchas veces desde su infancia, y únicamente fueron movilizados cuando llegado el momento de su lactancia, los lípidos de su tejido adiposo fueron convertidos en una gran parte, en grasa de la leche; téngase presente que, aproximadamente, el 60 % de las grasas totales de la leche tienen ésta procedencia. Pues bien, la presencia de BFC se ha mostrado como no desdeñable en la leche de mujer. Concretamente, en nuestro Departamento se estudio el contenido lácteo en bifenilos (13), y se pudo demostrar que ellos eran abundantes en el caso, sobre todo, de mujeres lactantes que habían vivido durante años en las costas del Cantábrico, y que muy posiblemente recibían una dieta rica en pescados. En grandes cantidades, la toxicidad para los niños es gran-

de. Retrasos intelectuales han sido su manifestación más destacada. Pero los BFP no son los únicos contaminantes posibles en la leche de mujer; los hay muy numerosos, como las dioxinas, furanos, plomo, etc. El hecho se ha observado de forma singular en la leche de las madres que viven en la proximidad de vertederos (14). Afortunadamente, salvo situaciones excepcionales, el grado de contaminación, aún siendo interesante, no es lo suficientemente grande como para que sea aconsejable suprimir la lactancia materna a favor de otras formas de alimentación del lactante. La OMS, y considerando estos riesgos y las múltiples ventajas que se derivan del uso de la leche de la madre, recomienda que sin análisis previos se haga uso de la misma de manera rutinaria.

Mayores son, indudablemente, las posibilidades de llegada de contaminantes a través de las aguas. Aquí sí que las posibilidades son enormes, aún sin citar contaminantes biológicos: fertilizantes y pesticidas, metales como el plomo, arsénico, radón, subproductos de desinfección, hidrocarburos, etc.

Vale la pena comentar lo que sucede con algún fertilizante, como es el caso de los nitratos, pues nos informa bastante bien de como son las cosas en los niños a diferencia de los adultos.

Los nitratos, empleados como fertilizantes, son arrastrados con los riegos y con la lluvia a otros cauces de agua, superficiales o subterráneos, que pueden ser usados como agua de bebida o para la preparación de alimentos. De otro lado, otra parte de los nitratos es incorporada por los vegetales que fueron fertilizados, y que de este modo, llegan a la mesa del niño con verduras, especialmente de hoja, como las espinacas o las acelgas, a menudo empleadas en la preparación de purés para el lactante. De una forma u otra, llegados los nitratos al estómago del niño, son rápidamente transformados en nitritos por las bacterias gástricas que pueden existir en el estómago infantil debido a su alto pH, cosa que no sucede en el adulto. Absorbidos los nitritos, al llegar a la sangre oxidan rápidamente a la hemoglobina, que convertida en metahemoglobina resulta incapaz de liberar oxígeno a los tejidos. Si en el caso del adulto se llegase a esta contingencia el problema sería revertido gracias a la presencia de una enzima, la reductasa de la metahemoglobina, que reduciendo a ésta la convertiría de nuevo en hemoglobina. En el niño pequeño esto no es posible. La enzima referida no se ha desarrollado, y la metahemoglobinemia es su consecuencia. Se produce el síndrome azul que, en algún caso, ha sido incluso fatal.

Decíamos más arriba también que el niño respira más activamente que el adulto. Si a ello añadimos que durante sus primeros meses de vida permanece en el interior de las casas, unas 20 horas diarias (15), se comprenderá que sus posibilidades de contaminarse por vía aérea sean grandes en el caso de que existan contaminantes en el interior de las casas. Y desgraciadamente es así con frecuencia. Por no poner más que un ejemplo, en el que no voy a insistir, pero piénsese en el tabaco. Se calcula que en alrededor del 20 % de los domicilios donde viven niños hay una o más personas que fuman. Sus consecuencias son bien conocidas.

Pasados ya los primeros meses de la vida, otras formas de contaminación acechan al niño. Antes de iniciar la marcha, el niño se pasa el día arrastrándose y gateando por los suelos, poniéndose así en contacto con maderas barnizadas, con alfombras, con hierba, etc. Tiene por este motivo ocasión de ponerse en contacto con bien diversas sustancias, como protectores de la maderas, o productos usados en la limpieza de alfombras, como ácidos orgánicos o formaldehído, o fertilizantes, etc.

Pero es que, además, en esta fase en la que el niño reptaba y juega tumbado, el nivel en el que respira es físicamente el más bajo, aproximadamente a unos 40 cm del suelo (el adulto lo hace entre 120 y 180 cm), justamente donde se acumulan toda una serie de partículas contaminantes que por su peso se hallan allá desplazadas, y de cuya peligrosidad no cabe dudar, como es el caso del radón o de los asbestos, sustancias ambas que en colaboración con el humo del tabaco, son determinantes de procesos carcinomatosos a largo plazo.

Finalmente, los propios comportamientos del niño pequeño le hacen sujeto propicio a otras contaminaciones que no acontecen en el adulto. Son los modos en los que el niño explora su mundo. El niño pequeño lo toca todo y lo chupa todo. Las consecuencias de este proceder han sido en alguna ocasión desastrosas, como lo fue la epidemia de Queensland en Australia, donde numerosos niños fueron contaminados con el plomo de las pinturas que habían sido aplicadas sobre porches bajo los que jugaban los niños; estos se entretenían en descascarillarlas y comérselas a continuación. Los resultados fueron tremendos: trastornos en el comportamiento, defectos intelectuales y en la audición, hipertensión arterial, etc.

III

Finalmente querría hacer mención de algunas de las preocupaciones del momento por lo que a la infancia se refiere.

Hasta casi el final del siglo pasado, la peligrosidad de los contaminantes se apreciaba cuando se producían situaciones realmente catastróficas. Era el caso, por ejemplo de las consecuencias de la radioactividad tras el accidente de Chernobil (numerosísimos casos de cáncer de tiroides en la infancia), o de los vertidos de la Bahía de Minamata ya referidos. Pero con el paso de los años se ha venido reconociendo que existen variaciones en la incidencia de una serie de graves problemas, generalmente en el sentido de haber aumentado su prevalencia. Esto ha sido lo sucedido con el cáncer infantil (15), con los trastornos psiconeurológicos (5), o con las alteraciones endocrinas (16), por no citar más que algunos. Y se ha dado en sospechar, incluso atribuir, que los contaminantes podrían ser los responsables de tan desfavorables modificaciones, La realidad es que es muy difícil poder afirmarlo. Las observaciones epidemiológicas no son lo suficientemente extensas para ser concluyentes en muchos casos, los estudios experimentales no permiten, sin más, su extrapolación a la especie humana, y la multiplicidad causal añade un factor más de complejidad a los análisis. No obstante esto, vamos sabiendo que algunos contaminantes son especialmente peligrosos, y que de un modo sutil, y aún a bajas concentraciones, pueden ejercer una acción deletérea.

Sobre el desarrollo psiconeurológico, el plomo, el metil-mercurio y los BFP podrían ser los más agresivos (17), y determinantes de retrasos mentales, de defectos de la atención, de hiperactividad, de pobre vocabulario, de conductas antisociales, etc. El interés por los contaminantes se ha acentuado al considerar, por ejemplo, que mientras en las formas severas de deficiencia mental se conoce con frecuencia la etiología, en las formas leves en más del 75 % de los casos se desconoce aquella. En tal situación se ha planteado el interrogante de si los contaminantes tienen algo que ver con aquello.

La preocupación existe, y fruto de ello son las tantas disposiciones y recomendaciones producidas. Prohibición de emplear y fabricar productos como el DDT o los BFP, consejos sobre el consumo de pescados muy grasos y de larga vida, pues han tenido más tiempo de acumular xenobióticos en sus tejidos grasos, así como los de

rechazar para el consumo los pescados procedentes de ríos y lagos no sometidos a control sanitario, etc.

En lo que al cáncer se refiere, la información existente es que últimamente su prevalencia se ha estabilizado tras el incremento producido en los años finales del siglo pasado, concretamente entre 1975 y 1990 (15). Su relación con los contaminantes está nítidamente establecida en algunos casos, como el ya referido caso de las radiaciones. Pero no pueden excluirse otras posibilidades causales. Como antes decíamos, es difícil obtener conclusiones definitivas, pero casi de manera continua aparecen publicaciones en que tales o cuales agentes resultan inquietantes. Así, por ejemplo, se ha comunicado que los hijos de las personas que trabajan con solventes industriales, como el benceno, o en industrias de pesticidas, sufren con más frecuencia de cáncer que en los que no concurren éstas circunstancias (15). Se especula sobre si los contaminantes podrían ya lesionar las células germinales de los padres, o ya todo fuera la consecuencia de una agresión directa sobre el niño durante su vida intrauterina. Linfomas no-Hodgkin, tumores de Wilms y de Ewing han sido los más implicados en éstas observaciones.

Sobre el sistema endocrino, los disruptores son numerosos, y operativos principalmente sobre la función tiroidea y sexual.

Los que pueden interferir la función tiroidea son muy variados: herbicidas como los BFP, el amidotriazol, o las tioureas, insecticidas del tipo del endosulfán, los mismos ftalatos, etc. De un modo u otro, impiden o dificultan la síntesis y la función de la hormona tiroidea, incluso a dosis muy pequeñas. Hay quien se ha planteado si su presencia en la madre gestante no restaría eficacia a la hormona tiroidea materna que alcanza el feto y que resulta indispensable para un normal desarrollo del cerebro infantil (neurogénesis, sinaptogénesis, migraciones, etc.). Si éstas circunstancias pueden estar responsabilizadas con los trastornos del desarrollo psiconeurológico antes referido, es algo debatido a la hora actual (6).

Por lo que se refiere a la disrupción endocrina que afecta a la esfera sexual, valdría la pena asomarnos a lo que sucede en los animales salvajes antes de contemplar lo que pasa en la especie humana. Porque algo está sucediendo. Particularmente entre aquellos animales que viven en estrecha relación y dependencia con el mundo acuático (18). Sin duda, porque en lo que se refiere a contaminación, a las aguas es adonde terminan por llegar una gran parte de los contaminantes. De entre éstos, hay una buena parte

dotados de propiedades miméticas hormonales (19,20) que, en lo que se refiere al área sexual se comportan ya como antiandrogénicos, ya como bloqueantes estrogénicos, ya como, opuestamente, dotados de actividad estrogénica directa. Entre ellos, pueden citarse insecticidas, herbicidas y fungicidas, como el DDT, el metoxicloro, el clordano, la azatrina, el endosulfán, el vinclozólín y otros. Sus mecanismos de acción parecen varios: ya operan directamente sobre receptores estrogénicos bien bloqueándolos, bien estimulándolos, ya inhibiendo la aromatasa que convierte la testosterona en estradiol, etc. Lo que sí parece es que ninguno de los contaminantes posee una acción tan potente como las hormonas naturales; a cambio, y por su más lenta degradación, resultan más persistentes en su acción a lo largo del tiempo, lo que, evidentemente, los hace más activos.

A estos contaminantes dotados de una cierta acción hormonal es a los que se han atribuido algunas interesantes observaciones en algunos animales salvajes. Es el caso de los caimanes del lago Apopka, en Florida. Estos animales sufrieron los efectos de vertidos contaminantes, y tras ello desarrollaron, probablemente «ex ovo», anomalías varias. En los machos, penes pequeños, comparados con los de sus congéneres habitantes de lagos inmediatos no contaminados, bajos niveles de testosterona plasmática, y anomalías gonadales. En el caso de las hembras llamaron la atención la presencia de folículos poliovulares y oocitos polinucleares, así como elevados niveles plasmáticos de estradiol.

Otro ejemplo de perturbaciones son las observadas en poblaciones de focas comunes habitantes del mar de Waaden. Su población decayó grandemente entre 1950 y 1975, desde 3000 animales a alrededor de 500. El descenso se atribuyó a su menor reproducción, lo que coincidió con la presencia en sus tejidos de cantidades muy elevadas de BFP. El hecho no sorprendió, pues en las zonas septentrionales y occidentales de aquel mar se habían producido contaminaciones muy importantes que habían afectado a los pescados de los que se alimentaban las focas. Otras poblaciones de focas, como las focas grises del Báltico, también sufrieron entre 1960 y 1970 importantes disminuciones en su fertilidad tras haber estado en contacto con vertidos de BFP y DDT; otros efectos fueron la presencia de numerosos individuos afectados de obstrucciones uterinas, de leiomiomas, y de hiperplasias córticoadrenales. Tras la aplicación de políticas conducentes a disminuir los niveles de BFP y de DDT en las

aguas, la fertilidad se recuperó y la proporción de anomalías asociadas disminuyó sensiblemente.

También en los osos polares de Noruega se han conocido alteraciones y disfunciones sexuales que se han relacionado con los BFP, hallados en altas concentraciones plasmáticas en estos osos. Las anomalías observadas han sido del tipo de los pseudohermafroditismos. Las hembras mostraban penes de gran tamaño, incluso conteniendo báculo en algunos casos, aunque en otros se trataba simplemente de hipertrofias clitorídeas. Podrían referirse también anomalías observadas en otros animales como las gaviotas, pero las enumeradas parecen suficientes para destacar las posibles repercusiones hormonales de los contaminantes.

Por lo que se refiere a la especie humana se ha sospechado que podrían producir casos de telarca prematura. De hecho, la epidemia que se produjo hace años en Puerto Rico fue atribuida a la ingesta de pollos que hubieran sido engordados con estrógenos. El tema aún se halla a debate en la actualidad, y últimamente, más bien se piensa que aquellos trastornos pudieran haber estado producidos por otros contaminantes como los ftalatos, miméticos endocrinos, muy empleados con diversos fines hoy en día. Utilizados sobre todo para dar flexibilidad y dureza al polivinilo, han sido empleados en numerosos objetos utilizados por los adultos y los niños, como chupetes, biberones, etc.

Por supuesto que casos de telarca han podido ser constatados tras la utilización de cremas cosméticas conteniendo estrógenos o extractos placentarios. Y es posible también, aunque no es seguro, que los contaminantes hayan podido ser la causa del adelantamiento de la telarca en el curso de los últimos años (la iniciación de aquella ha pasado de los 11,2 años a los 9,4 años).

También se ha adelantado la menarquia en las niñas en los últimos tiempos. Nosotros observamos que la menarquia de las niñas actuales se ha adelantado respecto de la fecha en que la tuvieron sus madres en 0,3 años. Hasta hoy en día, veníamos pensando que ello sería la consecuencia, una más, de la aceleración secular del crecimiento. Pero últimamente empezamos a pensar si quizás tal aceleración no sea sino algo así como una pubertad precoz central determinada por una pubertad precoz periférica originada por los contaminantes.

En el caso de los varones hay numerosos temas a debate, como es el caso de la oligospermia (21) que últimamente se viene detec-

tando en numerosos países. Igualmente se están detectando casos de hipospadias (22) y criptorquidias (23) que se atribuyen a ftalatos. Estos podrían ocasionar lesiones en las células fetales de Leydig y de Sertoli, con la consiguiente disminución de la producción de testosterona, siendo su última consecuencia las malformaciones indicadas.

IV

Desearía concluir insistiendo en que el capítulo de la contaminación ambiental es un capítulo, como decíamos al principio, creciente, y abierto, en el que si bien conocemos algunos de sus temibles efectos producidos por contaminaciones importantes (radiaciones, efectos del metil-mercurio, hexaclorofeno de la porfina turca, etc.) aún nos queda por explorar y saber que es lo que sucede con infinidad de contaminaciones menores, susceptibles de promover alteraciones sutiles, pero responsables, tal vez, de graves consecuencias.

BIBLIOGRAFÍA

1. PÉREZ PÉREZ, F.: «La razón biológica de una preocupación universal: perturbación del medio ambiente». *An Real Acad Nac Med* 1991; CVIII: 747-774.
2. PÉREZ PÉREZ, F.: «Hacia un nuevo orden mundial para el gobierno de la biosfera desde la ONU». *An Real Acad Nac Med* 1993; CX: 477-572.
3. PIÉDROLA GIL, G.: «Esperanzas y desilusiones tras la cumbre de Río de Janeiro». *An Real Acad Nac Med* 1993; CX: 439-454.
4. PÉREZ PÉREZ, F.: *El futuro alimentario del hombre. Discurso inaugural del curso académico 1987-88*. Universidad Complutense. Madrid.
5. COLBOM, T.: «Neurodevelopment and endocrine disruption». *Eviron Health Perspect*, 2004; 112: 944-949.
6. DOMÍNGUEZ CARMONA, M.: «Radiaciones electromagnéticas y salud». *An Real Acad Nac Med* 1992; CIX: 28-94.
7. CORTÉS GALLEGO, R.: «Terrorismo energético». *An Real Acad Nac Med* 1992; CIX: 429-459.
8. PERERA, F.P.; TAUG, D.; TU, Y.H. *et al.*: «Biomarkers in and newborn blood indicate heightened fetal susceptibility to procarcinogenic DNA damage». *Environ Health Perspect* 2004; 112: 1133-1136.
9. HERBST, A.L.; SCULLY, R.E.: «Adenocarcinoma of the vagina in adolescence: a report of 7 cases including 6 clear-cell carcinomas (so-called mesonephromas)». *Cancer* 1970; 25: 745-757.
10. HERBST, A.L.: «The effects in the human of diethylstilbestrol (DES) use during pregnancy». *Princess Takamatsu Symp* 1987; 18: 67-75.

11. MOYA, J.; BEARER, C.F.; ETZEL, R.A.: «Children's behavior and physiology and how it affects exposure to environmental contaminants». *Pediatrics* 2004; 113: 996-1006.
12. CRESTEIL, T.: «The development of metabolic mechanisms for xenobiotics», págs. 5-118. En Agget, P. y Kuiper, H.: *Risk assessment in the food chain of children*. Lippincott Williams and Wilkins. 2000.
13. CONDE, C.; MALUENDA, C.; ARRABAL, C.: «Organochloride residues in human milk in Spain. Polychlorinated (PCB)s from 1988 to 1991». *Bull Environ Contam Toxicol* 1993;51 :832-837.
14. KUNISUE, T.; WATANABE, M.; IWATA, H. *et al.*: «Dioxins and related compounds in human breast milk collected around open dumping sites in Asian developing countries: bovine milk as a potential source». *Arch Environ Contam Toxicol* 2004;47:414-426.
15. ETZEL, R.A.: «Hazards of indoor air pollution. Pediatric Environmental Health: Putting it into practice». *Children's Environmental Health Network*. Washington 2004.
16. OLEA, N.; MOLINA, M.J.; GARCÍA MARTÍN, M.; OLEA-SERRANO, M.F.: «Modern agricultural practice: the human price». En Soto, A.M.; Soneschein, C.; Colborn, T.: *Endocrine disruption and reproductive effects in wildlife and humans. Comments in Toxicology*, 1995.
17. WOODRUFF, T.J.; AXELRAD, D.A.; KYLE, A.D. *et al.*: «Trends in environmentally related childhood illnesses». *Pediatrics* 2004;1 13:1133-1140.
18. GULLEDGE, C.C.; BUROW, M.E.; MCLACHLAN, J.A.: «Endocrine disruption in sexual differentiation and puberty». *Ped Clin N Am* 2001; 48: 1223-1240.
19. OLEA-SERRANO, N.; ZULUAGA GÓMEZ, A.: «Exposición infantil a disruptores endocrinos». *An Esp Pediat* 2001; 54 S-1: 58-62.
20. HERMAN-GIEDDENS, M.E.; SLORA, E.J.; WASERMAN, R.C. *et al.*: «Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: A study from the Pediatric Research in Office Settings network». *Pediatrics* 1997; 99: 505-512.
21. CARLSEN, E.; GIWERCMAN, A.; KEIDIN, N.; SKAKEBACK, N.E.: «Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years». *British Med J* 1992; 305: 609-613.
22. FISHER, J.S.: «Environmental antiandrogens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome». *Reproduction* 2004; 127: 305-315.
23. OLEA, N.; FERNÁNDEZ, M.F.; ARAQUE, P.; OLEA-SERRANO, F.: «Perspectivas en disrupción endocrina». *Gace San* 2002; 16: 209-256.

INTERVENCIONES

Prof. Pérez Pérez

En primer lugar mi felicitación al Prof. Casado de Frías por esta conferencia tan maravillosa. El problema de la contaminación es

fundamental y tengo que decir con satisfacción que en la Cátedra Félix Rodríguez de la Fuente que dirijo se han pronunciado más de 1.100 conferencias desde el año 1980 hasta ahora y se ha agotado el tema de la contaminación ambiental, y hemos sido objeto de una felicitación de la secretaría del Santo Padre, transmitida por el Prof. Sanz Jarque, Rector de la Universidad de Ávila, precisamente por la labor que estamos haciendo en orden a la labor de la contaminación ambiental y al conocimiento de estos hechos.

Por otra parte, efectivamente el tema de la contaminación ambiental, el tema de la animata es importantísimo, y hay que señalar que es el gato precisamente la especie animal más sensible a las intoxicaciones de mercurio, y que los episodios de esta península, de esta bahía, se descubrieron porque los gatos comen pescado abundantemente y éste es el reservorio fundamental del mercurio que tienen las aguas marinas, aparecieron estos cuadros de hiperestesia, de locura y finalmente de muerte tremendo.

Pero hay otro asunto bastante más importante que hace unos días discutíamos en la Real Academia de Doctores en una mesa redonda que presidían el que fue Fiscal del Tribunal Supremo y el Prof. Calcerrada sobre el tema del que ahora se está tratando de modificar el código civil en relación con la protección de la familia. Fui invitado a tratar el asunto de los homosexuales por una razón fundamental: evidentemente los contaminantes tienen una acción deletérea sobre los cromosomas sexuales, de tal manera que esta acción deletérea va a repercutir notablemente en que a partir incluso ya de la contaminación infantil, se van acumulando estas acciones deletéreas. Ocurre entonces que el juego XY se convierte en XY débil y aparece una transición de la pubertad del niño que siempre es difícil, zozobante, aparecen cambios en la voz y a veces no se define totalmente el sexo, pero cuando se acentúa esta situación da como resultado un sexo débil masculino que es propenso al heterosexual femenino; cuando ocurre este fenómeno en el XX, es decir, en la mujer, sucede una debilidad en uno de los cromosomas y aparece una virilización. Entonces así justificábamos el cambio de la sexualidad, las tendencias de las parejas homosexuales y heterosexuales, y lo que entonces estábamos definiendo antes de hablar del matrimonio homosexual o heterosexual, tenemos que decir quién es el macho y quién es la hembra, y antes de emitir un juicio desde el punto de vista jurídico, hay un juez en Ginebra que en el año 1999 decía «yo no me muero tranquilo porque muchas

sentencias que he pronunciado eran consecuencia y sujetos que no eran libres», estaban sometidos al mandamiento genético, y descubrió que un matrimonio que había pedido la separación era porque la mujer era XY y además él pensaba que muchos delincuentes que habían condenado eran XYY, que el Dr. Omorós consideraba como delincuentes predestinados, es decir, congénitos.

En este momento histórico en el que abundan estas versiones sexuales a nuestro entender es el efecto de los contaminantes con su acción deletérea sobre los cromosomas sexuales que nos determinan actitudes diferentes, porque una cosa es la sexualidad que conduce al goce y otra cosa es la reproducción o la procreación que conduce al crecimiento de la especie.

Prof. Portera Sánchez

Quiero llamar la atención al hecho de que muchos de estos contaminantes se basan en una enorme fragilidad del niño para muchas cosas, pero sobre todo para mí una de las contaminaciones más horribles que existe es la contaminación intelectual, la contaminación cultural. Tenemos ejemplos en los últimos años porque hemos sido testigos de que ciertas religiones, ciertos estilos culturales contaminan a los niños, y ellos por imitación, porque la manera de aprender de un niño es imitar, por lo tanto sin defensas racionales para juzgar si lo que está absorbiendo, si lo que le están diciendo es correcto o no desde el punto de vista humano, porque no son humanos todavía. Son las distorsiones de comportamiento que existen en ciertas culturas, y los que ya tenemos cierta edad estamos observando que existe una enorme distorsión del comportamiento de lo que hoy se llama adolescentes y el comportamiento de las religiones de otros países que tienen mucha mayor potencia y sobre todo con un contenido de agresividad enorme. Creo que eso va a ser muy difícil de tratar porque existen efectos multiplicadores que, repito, los niños son muy frágiles y además aprenden por imitación.

No sólo hablar de si uno tiene cromosomas de una clase u otra. El niño cuando es pequeño, con seis, siete o diez años, observa que tiene dos padres en la familia, dos hombres que se han casado, y en el caso de las madres solteras el niño no tiene padre. Me parece muy bien que la libertad humana del adulto tenga esas posibilidades de expresarse. El interés del niño por el tema de la diferencia-

ción sexual es muy importante. Es lo mismo que la contaminación religiosa, que cada día es más potente sobre todo en religiones que están naciendo constantemente y que invitan y por tanto los niños imitan a comportamientos que son dañinos para los demás y dañinos para uno mismo. Esa contaminación no es producto químico ninguno, es que la especie humana está teniendo comportamientos anti especie humana, y si la evolución tuvo enorme éxito en crear animales que son espectacularmente bellos de comportamiento, fiables y que lo han demostrado porque llevan miles de millones de años funcionando, el error fundamental que creó, si tuvo ocasión de errar, la abundancia de errores en la transmisión genética, fue la creación de la especie humana, que va a ser la más dañina para la especie humana, cuando ya es muy dañina para otros animales.

Hoy ha salido en el periódico que hay un gran científico inglés que calcula que en este siglo, la especie humana estará diezmada por la propia especie humana.

Prof. Sánchez García

Aunque yo no soy pediatra evidentemente no he resistido a la tentación de levantarme por una razón, porque me he sentido contaminado por el medio ambiente, y sobre todo me he sentido contaminado por la lucidez, por la elegancia y por el señorío con que D. Enrique ha presentado esta charla. La he gozado profundamente y me ha parecido corta D. Juan. Me ha llamado la atención porque no ha usado diapositivas, es un experto y ha hecho una conferencia celestial.

Los farmacólogos siempre decimos a los estudiantes que el niño no es un hombre pequeño, es un hombre inmaduro.

Prof. Seoane Prado

Un par de comentarios desde la perspectiva profesional más química en la magnífica, excelente, documentadísima y erudita conferencia que nos ha dado el Prof. Casado de Frías, quizá un poco apocalíptica en algunos aspectos y quizá la nota algo menos pesimista que me gustaría poner en esta breve intervención.

Todas las grandes catástrofes ambientales producidas son todas de al menos 40 años de antigüedad, básicamente las grande catástrofes, salvo ocasiones especiales, como es un accidente nuclear, el

control de los contaminantes masivamente está razonablemente dominado en este momento y catástrofes extraordinarias, salvo cosas muy puntuales, Aznalcóllar puede ser una, son accidentes más que contaminaciones progresivas. Quiero decir con esto que la tendencia parece que es positiva en cuanto a que los controles son cada vez mejores en cantidad y en cualidad. En cuanto a la legislación más restrictiva en los productos químicos que pueden introducirse en el mercado que requieren controles toxicológicos cada vez mayores, más estrictos, más difíciles de superar. Dicho de otra manera, los productos químicos cuando más nuevos generalmente más seguros que los que llevan décadas en el mercado, es un poco la consecuencia que de ahí puede sacarse.

La segunda idea menos negativa es que las grandes catástrofes, incluso las apocalípticas que se han producido, han demostrado una capacidad casi maravillosa de la naturaleza para recuperarse. La última que ha pasado, la de Aznalcóllar, producida hace muy pocos años en Doñana, prácticamente ya no ha dejado rastros, las especies vivas se han recuperado completamente, los análisis de aguas y de suelos prácticamente están en un nivel próximos a la normalidad. De modo que la naturaleza tiene una capacidad de recuperación mayor de lo que en general se espera en este sentido.

Mi última observación que va a la última parte de su brillantísima conferencia, muy preocupante, que son lo que los químicos llamamos las contaminaciones en trazas, cantidades tan pequeñas de PPB, de PPT e incluso de PPQ en algunos casos y hasta partes por cuatrillón en algunas moléculas y cuyos efectos son posibles aunque muy difíciles de determinar. El dejar únicamente en manos de la epidemiología el estudio de esos fenómenos tiene sus riesgos, porque la epidemiología no es capaz de encontrar efectos causales sobre todos los fenómenos de causa multifactorial. De modo que hay que ser un poco cauto en este sentido y ahí me uno a mi colega farmacólogo en cuanto a una de las graves y básicas preguntas es dónde están los efectos umbrales en las toxicidades, cuando bajamos tanto en concentraciones de productos es razonable atribuirles causas o no, ¿es el organismo humano capaz de liberarse por completo de cantidades de cualquier cosa si son suficientemente pequeñas esas cantidades o no? Es una pregunta que evidentemente no está resuelta todavía pero que es la base de los estudios en contaminación difusa en cantidades de trazas en largos períodos de duración.

En conjunto pues, mi agradecimiento a la conferencia que ha sido

extraordinariamente documentada y muy precisa, pero por otra parte pone un tono algo menos pesimista en algunos de los aspectos, sobre todo de aquí al futuro. Si del pasado a aquí las cosas han sido muy malas, creo que de aquí al futuro yo creo que la tendencia es positiva.

Prof. Rodríguez Rodríguez

Brillante conferencia D. Enrique. Los grandes problemas han surgido en aquellos lugares donde había grandes concentraciones eléctricas, las radiaciones electromagnéticas produjeron que en aquellas familias los niños tuvieran más leucemias. Recientemente en Valladolid, hace un par de años, aparecía en la Escuela de Magisterio Quintana, que tenía alrededor una serie de repetidores, que si había más procesos, por esos campos magnéticos, de alteraciones tumorales en los niños. Parece que el gran problema ahora son las asociaciones, y lo digo porque nosotros hemos estudiado unos campos magnéticos tan pequeños como los que producen los móviles, y los hemos asociado en cultivos celulares precisamente con trazas de molibdeno, de cadmio, de mercurio, etc..., y la toxicidad es enorme en relación que prácticamente los campos magnéticos sin estas trazas de sustancias tóxicas no hay destrucción, no hay efecto toxicológico. Cuando se asocian pequeñas sustancias contaminantes a algo son mucho más tóxicas, son peores para el organismo.

Yo no se si hasta cierto punto sería de interés ver la asociación de trazas o no trazas, elementos ambientales, que es lo que conducirá probablemente a ese efecto catastrófico.

Prof. Escudero Fernández

Yo me levanto para felicitar muy efusivamente al Prof. Casado de Frías por su brillante conferencia. Los obstetras estamos especialmente sensibilizados a la contaminación ambiental, sobre todo en el ser indefenso que es el feto durante los meses de la gestación. Yo quería abundar en lo que llamamos hoy día drogas socialmente aceptadas como el tabaco y el alcohol, las drogas, incluso los medicamentos. El feto, dentro del claustro materno, no está defendido por la placenta. Los andrógenos, los propios gestágenos de sín-

tesis tienen repercusiones negativas y la placenta no es un filtro; el alcohol al minuto ya está en la sangre del feto.

Quería recalcar que el mensaje que nosotros deberíamos de dar a la sociedad es que esos contaminantes que son evitables, como por ejemplo el alcohol, el síndrome alcohólico fetal que se da en un dos por mil de los nacimientos es la única causa evitable de subnormalidad y deberíamos hacer una campaña como la que se ha hecho en el mundo contra el tabaco, lo mismo con las drogas y con los medicamentos. Hay una serie de contaminantes que son evitables y creo que nuestro mensaje debería ser el promocionar que todos esos contaminantes evitables no estuvieran al alcance socialmente como lo están estas drogas. Hay otros efectos como la altura en La Paz o el aumento de rayos cósmicos en el Tibet que son irremediables. Frente a todas estas drogas socialmente aceptadas y la automedicación creo que todos los médicos y sanitarios deben mandar un mensaje a la sociedad para evitar estos contaminantes.

Prof. Domínguez Carmona

El problema que ha tratado hoy el Prof. Casado de Frías es importante. Quería hacerle una pregunta: ¿Qué puede decirnos hoy, al cabo de muchos años, sobre la urodinia, aquella enfermedad misteriosa? Esto está en relación con ¿Cuál es la dosis perjudicial, la que por sí misma puede producir un efecto, la mínima cantidad, por ejemplo, dosis letal mínima, dosis efecto mínimo, o es la que produce el mismo efecto a una gran cantidad de personas? De tal modo que en el concepto de la acción tóxica puede ser una cantidad mínima si da en el blanco correspondiente, y pienso que esto es muy importante, porque no hay nada que sea inocuo si da en el blanco correspondiente.

También quería subrayar algo que me ha gustado mucho en todas las intervenciones, y es que tanto el Prof. Casado de Frías como los que han intervenido han hablado de ambiente, no de algo tan horrible, tan ridículo, tan absurdo como hablar de medio ambiente.

Prof. Nogales Espert

Quiero, en primer lugar, felicitar al Prof. Casado de Frías por el tema que ha tratado, que es muy importante y nos preocupa mu-

cho a los pediatras. También he de decirlo por la forma. El Prof. Casado es un gran orador, lo ha sido siempre y lo es, sus discípulos lo sabemos muy bien, y no necesita para nada apoyarse en medios técnicos, que muchas veces lo que hacen es perjudicar una conferencia; la exposición es clarísima en ese sentido.

Ha hecho referencia a estudios del departamento que fueron muy importantes, de eliminación de productos tóxicos por la leche de mujer, por la leche de madre. Por cierto, esos estudios fueron diseñados por usted en la mayor parte de los casos, aunque realmente se llevaron a la práctica por colaboradores suyos, y en ese sentido, en cuanto a la alimentación del niño, se escribe mucho sobre la alimentación complementaria del lactante que sería más seguro si se utilizaran alimentos preparados industrialmente más que alimentos de mercado, ya que al parecer estarían más seleccionados tanto los alimentos de origen animal como vegetal en orden a evitar este tipo de contaminación.

Otro aspecto que me gustaría que me comentara es la importancia que está teniendo en el diseño de los centros neonatales la evitación de la contaminación ambiental sonora, que tan perjudicial es para los neonatos, sobre todo para los niños inmaduros, y que es muy importante este hecho.

EL ADIPOCITO, CÉLULA PRODIGIOSA

THE ADIPOCYTE, PRODIGIOUS CELL

Por el Excmo. Sr. D MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

Académico de Número

La obesidad es la respuesta hipertrófica e hiperplásica de los adipocitos para compensar la disminución funcional de alguno o de varios de sus productos de secreción; por eso fracasan los tratamientos.

Resumen

En este trabajo se destaca el rico papel endocrino de los adipocitos, que, junto con su función de depósito lipídico y reguladora del metabolismo, le confieren un lugar central en la fisiología y en la patología.

Abstract

In this work, I stand out the rich endocrine role of adipocytes, that together with its function of lipidic deposit and regulating of metabolism, this confers them a central place in physiology and pathology.

Excmo. Sr. Presidente Prof. Schüller, Excmos. Señores:

INTRODUCCIÓN

Los conocidos efectos negativos que sobre la salud ejerce el exceso de tejido adiposo justifican el interés de los sanitarios por la obesidad considerada la principal pandemia del siglo XXI. Además del aumento de carga mecánica que continuamente tiene que soportar el obeso, especialmente sus sistemas cardio-vasculo-respiratorio y arti-

cular, hay que destacar la alteración de la secreción de leptina, la activación del simpático y la del sistema renina-angiotensina-aldosterona y la génesis del síndrome de resistencia a la insulina o plurimetabólico. A ello hay que añadir los efectos paracrinos; las secreciones de los adipocitos (y las del estroma) actúan sobre los órganos cercanos y así la adiposidad androide se relaciona con la cardiopatía isquémica y que el depósito ectópico perifaríngeo cause la apnea del sueño, o el depósito periarticular origine osteoartritis. Aquí nos limitamos a la presentación de la función endocrina de los adipocitos.

FUNCIÓN ENDOCRINA DE LOS ADIPOCITOS

Clásicamente los adipocitos eran considerados un mero, aunque importante depósito energético, que almacena y libera lípidos por la acción de una serie de factores para ser metabolizados y para formar lipoproteínas. Los adipocitos constituyen, como la piel, un órgano diseminado, que produce muchas hormonas y péptidos llamados adipocitoquinas o adipoquinas, en los que se incluyen factores de crecimiento autocrinos que interactúan entre sí, e intervienen en el desarrollo y diferenciación de los adipocitos, en la regulación del balance energético, en la función vascular, en la sensibilidad a la insulina y en la respuesta inmune. La obesidad y opuestamente, la lipopatofia, afectan a la producción de muchas adipoquinas. El conocimiento de estos factores es crucial para conocer el papel de los adipocitos en la producción de la obesidad, de la enfermedad vascular, del síndrome metabólico y de la hipertensión. Las principales sustancias segregadas por los adipocitos son:

1.º LEPTINA. Kennedy sospechó en 1953 que los adipocitos segregaban una sustancia capaz de regular la ingesta, haciéndola inversamente proporcional a los lípidos almacenados en ellos. Hervey en 1958 no encontró esa regulación en las ratas con lesiones en el núcleo ventromedial del hipotálamo. Coleman en 1973-1978 trabajando con ratones en parabiosis sugirió que la regulación del apetito y del peso, se debería a un factor sérico del que carecían los ratones *ob/ob*. En 1994, Jeffrey Friedman y cols. clonaron al gen responsable de la obesidad en el ratón *ob/ob* encontrando que se expresaba en sus adipocitos, codificando a una proteína de 16 kDa denominada leptina de leptos «delgado» que evitaba la obesidad de los ratones, al actuar sobre sus receptores.

Además de la conocida función anorexígena de la leptina se realiza al reaccionar con sus receptores de las neuronas del arcuatus inhibiendo al NPY haciendo que el hipotálamo segregue la hormona liberadora de gonadotropina (gonadotrophin-releasing hormone, GnRH), la cual, al reaccionar en la hipófisis, hace que ésta segregue la FSH y la LH madurando y activando al eje hipotálamo-hipofiso-gonadal (Urbanski 2001, Blundell y cols. 2001, Friedman 2002), influyendo en la actividad de las glándulas sexuales. Gracias a esas hormonas se desencadena la pubertad, que requiere suficiente leptina, lo que quiere decir que existan suficientes adipocitos y por ende de estado nutricional. La pubertad se retrasa en las niñas que danzan o en las atletas y no aparece en las anoréxicas, ni en los niños de ambos sexos, que carecen de leptina, por mutaciones del gen *ob* o del de su receptor. Frisch y col. (1970), propusieron que se necesitaba para la pubertad un nivel crítico de grasa, actuando como nexo entre el depósito lipídico y el hipotálamo, la elevación de la leptinemia y esta la maduración sexual.

La leptina activa a las neuronas simpático desde la IRS a la PI3-K de la vía intracelular de la insulina en las neuronas simpáticas pues el LY294002 o la wortmanina, inhibidores de la PI3-K, intracerebral atenúan la activación simpática renal inducida por la leptina, sin que se modifique la simpáticoactivación que ejerce el sistema de la melanocortina. La activación del simpático libera noradrenalina en las terminaciones noradrenérgicas óseas, diferenciando a los osteoclastos en competición con el neuropéptido CART que inhibe esa diferenciación; al unirse a receptores β_2 -adrenérgicos de los osteoblastos inhibe la actividad de estos, lo que hace que la leptina esté implicada en el remodelado óseo (Karsenty y cols Nature 2005), y que intervenga en la génesis de la osteoporosis.

El trofoblasto segrega leptina que pasa al cordón que llega a tener una concentración de 40 o más ng/ml o sea elevada que estimula el desarrollo del feto. Los ratones *ob/ob* son infértiles pero en ellos la leptina restablece la fertilidad (Chehab y cols. 1996). El ratón silvestre en ayunas tiene disminuida la leptina y su ovulación se retrasa varios días, fenómeno reversible con inyecciones repetidas de leptina. La rata silvestre joven a la que se inyecta repetidas veces leptina adelanta su pubertad (Ahima y cols.1996). La leptina estimula a las neuronas del hipotálamo cultivadas a producir GnRH y a las hipofisarias a producir gonadotropinas.

El hombre obeso por déficit de leptina o de su receptor es in-

maduro sexualmente presumiblemente por defectos en la activación del hipotálamo.

Además de esas funciones la leptina activa al simpático y a muchos órganos cuyas células disponen de R leptina tales como el hígado, el pulmón, el corazón, en el que regula la contractilidad cardiaca y vascular por acción local dependiente del óxido nítrico, el testículo, el ovario, el riñón, el bazo y el propio tejido adiposo (Zang y cols. 1994, Tartaglia y cols. 1995, Caro y cols. 1996, Mercer y cols. 1996).

La leptina estimula la secreción de las citoquinas proinflamatorias el TNF α , la IL-6, que promueven hipertensión (Loffreda y cols. 1998).

2.º La ADIPOQUINA PAI-1, acrónimo del nombre inglés del más importante inhibidor endógeno del activador de tipo 1, del plasminógeno y del uro-plasminógeno. El plasminógeno es el principal fibrinolítico de la sangre y la plasminemia en el hombre está relacionada con la presión en normo y en hipertensos (Hirose y cols., 1998. Schorr y cols, 1998). En la obesidad, especialmente en la de distribución abdominal esta disminuida la fibrinólisis debida al aumento de la expresión de PAI-1 en los adipocitos, sobre todo de los que rodean a las vísceras, por lo que la razón cintura, cadera, está asociada positivamente con el fibrinógeno, con el factor VII, con el PAI-1 (Rosito y cols. 2004) tanto más cuanto mayor sea la masa y la talla de sus adipocitos. La PAI-1 de los obesos sean o no diabéticos es 4-5 veces mayor que en los normales (Töhrshoff y cols. 1990). La pérdida de peso por restricción calórica o por el ejercicio bajan el PAI-1 plasmático. La expresión del PAI-1 está regulada positivamente por la insulina, los glucocorticoides, la angiotensina II, algunos ácidos grasos y muy potentemente, por las citoquinas proinflamatorias como el TNF α y el TGF β (factor transformador del crecimiento-beta), mientras que las catecolaminas, las tiazolidindionas, la metformina y los antagonistas del receptor AT (1) reducen la expresión del PAI-1 en los adipocitos.

La PAI-1, (así como los AGL el cortisol, y la hormona del crecimiento) tiene una concentración doble a cuádruple de la normal, en los pacientes con crisis hiperglicémicas, que se normaliza al hacerlo la glucemia por la insulina. La PAI-1, aumenta la producción de reactantes de la fase aguda aunque tiene una potente acción antiinflamatoria (Stentz y cols. 2004).

La obesidad y la resistencia a la insulina son los más influyentes factores que aumentan la tasa de PAI-1 y a su vez este genera

obesidad. Las alteraciones del sistema endocrino y la de la función auto-paracrina de los adipocitos puede aumentar el PAI-1 y en consecuencia el riesgo cardiovascular (Skurk y col. 2004). La reducción del peso y el ejercicio disminuyen los niveles sanguíneos del PAI-1.

La insulina disminuye los niveles de PAI-1, en paralelo a la de los ácidos grasos libres lo que hace pensar que la resistencia a la insulina y su efecto antilipolítico pueden intervenir en la elevación de los valores de PAI-1. Para Lippe y cols. (1988) el incremento del PAI-1 podría ser debido al aumento del tejido adiposo y, frecuentemente, de Lp (a)

3.º EL PÉPTIDO NATRIURÉTICO ATRIAL ANP y posiblemente el cerebral BNP (B-type natriuretic peptide), se sintetizan por los adipocitos que junto con el péptido de tipo 2 constituyen el sistema natriurético del organismo, importante regulador de la homeostasis del sodio y de la activación de las neurohormonas. Sus genes, específicos de cada péptido, se expresan en el corazón, cerebro, riñones y en los adipocitos. (Rosenzweig y col. Seidman, 1991,1992, Maoz y cols. 1992, Nakao y cols. 1992, Sarzani y cols. 1993, 1996, Dessi-Fulgheri y cols., 1998).

Los obesos tienen menores niveles de péptidos natriuréticos en sangre aumentando su riesgo de tener hipertensión y sus consecuencias; los niveles plasmáticos del ANP son menores en los obesos hipertensos que en los normotensos (Dessi-Fulgheri y cols. 1997). Valores elevados de estos péptidos en los obesos, representan una enfermedad cardiaca aún asintomática. Los valores de estos péptidos, son similares en los hipertensos no tratados, obesos o no, que en los obesos normotensos (Grandi y cols. 2004), pero dentro de cada grupo los niveles son mayores en los pacientes con disfunción de la diástole o con hipertrofia del ventrículo izquierdo, con independencia de la edad, del IMC y de la tensión arterial en 24 horas. La sobrecarga de sal en los obesos no aumenta la ANP (ni se modifica el PRA ni la aldosterona) mientras que en los delgados se eleva mucho.

Cada péptido tiene un receptor específico llamado NPr-A, NPr-B, y NPr-C (Nakao y cols. 1992, Levin y cols. 1998) respectivamente que al ser estimulados, normalizan el volumen plasmático, la fracción renal del sodio, la presión arterial, el elevado tono simpático de los vasos periféricos, amortiguan la función barorreceptora y reducen el dintel de función de los eferentes vagales suprimiendo la taquicardia refleja y la vasoconstricción resultante de la disminución

del volumen extracelular. Los ratones transgénicos que sobreexpresan el gen del ANP, tienen menor presión arterial, mientras que los animales que lo tienen inactivado son proclives a desarrollar hipertensión por exceso de sodio en la dieta (Melo y cols.1998,2000). Los péptidos natriuréticos por la excreción de sodio, por la vasodilatación, por la inhibición del simpático y del sistema renina-angiotensina protegen de la hipertensión. Los adipocitos de los obesos tienen sobrepresado el NPR-C. Los obesos hipertensos responden mas intensamente al aporte exógeno de ANP medido por la reducción de la presión arterial, de la natriuresis, y por el aumento de la excreción urinaria del guanil monofosfato cíclico (GMPc) (Dessi-Fulgheri y cols. 1999), efectos que intensifica una dieta pobre en calorías. La reducción del 40% del peso de ratas obesas por restricción calórica disminuye significativamente el ANP circulante y una gran reducción de la PRA (Crandall y cols., 1989).

El ANP disminuye la renina y la hormona antidiurética. Yokoyama y cols. (2004) obtuvieron ratones HuB/hLpLGPI que expresaban la lipoproteína lipasa, no-transferible anclada por fosfatidil-inositol glicosilado en los cardiomiocitos con más apolipoproteína B (apoB) intracelular. Esos animales tienen cardiomiopatía, con dilatación del miocardio, pero solo el 62% de los triglicéridos y el 81% de los AGL que los controles, segregaban más apoB, y expresan menos factores natriuréticos y más GLUT4, liberaban mas citocromo c de sus mitocondrias al citosol y captaban más las lipoproteinas de baja densidad sin que tuvieran aumento de la mortalidad, deduciendo que la expresión por el corazón de la apoB, mejora la cardiomiopatía al aumentar la resecretión de lípidos por este órgano.

4.º ANGIOTENSINÓGENO. El adipocito es después del hígado la más importante fuente de angiotensinógenos (Ishigami y cols. 1999). En la obesidad puede estar aumentada la expresión de los genes mAGT y hAGT de 600 pares de bases codificadores de los angiotensinógenos en los adipocitos blancos abdominales y perirrenales de los ratones normales (C57BL/6J), en los transgénicos y en el hombre hechos obesos por una dieta con el 45% de sus calorías en forma de grasa (Rahmouni y cols. 2004) que activaría la transcripción de 1.200 bases del hAGT; el aumento es mayor si el gen presenta mutaciones. El aumento de angiotensinógeno no se presenta en el adipocito blanco subcutáneo, ni en el hígado, ni en el riñón ni en el corazón ni en el adipocito pardo. En la obesidad está

también aumentada la enzima de conversión, que depende del alelo D encontrado por Martínez y cols. (2000) en españoles de la zona mediterránea. Como consecuencia está aumentada la angiotensina II (Cooper y cols 1997). Las tiazolidindionas regulan la acción de la angiotensina II reduciendo la expresión de su receptor, suprimiendo la remodelación vascular, la formación de la lesión y el estrés oxidativo. Las tiazolidindionas mejoran los efectos metabólicos de la insulina en ratas obesas.

Hay que tener en cuenta que la angiotensina II aumenta la génesis de leptina que a su vez potencia la acción presora de la angiotensina II. En la diabetes humana y en la experimental está aumentada la capacidad de sintetizar y ligar angiotensina II, importante péptido vasoactivo que acelera mucho la ateromatosis en la diabetes experimental. La inhibición de la síntesis o la de la actividad de la angiotensina II reduce la aterosclerosis y la mortalidad cardiovascular. La angiotensina II activa varias vías de transducción de señales que terminan produciendo factores de desarrollo vascular y de migración, citoquina pro-inflamatoria y un agente de estrés oxidativo.

La protección cardiovascular es independiente de la presión arterial y de la actividad basal del SRA, lo que otorga a este sistema un importante y directo papel en la progresión de la aterosclerosis.

5.º La adiponectina (también llamada AdipoQ o proteína ligante de gelatina o Acrp30 de «adipocyte-complement-related protein» o ApM-1, es una adipocitoquina, semejante al colágeno, relacionada con el factor Clq de la vía clásica de activación del complemento. Es antidiabética, antiinflamatoria, angiogénica y muy antiateromatósica. Su gen tiene variantes, que intervienen en la patología, que se distribuyen diferentemente según la raza. El PPAR γ , la pérdida de peso y las tiazolidinedionas activan la expresión del gen de la adiponectina y la disminuyen la obesidad humana y experimental, debido al depósito graso perivisceral del abdomen (Ibáñez y cols. 2004), por el TNF α y por los agonistas beta-adrenérgicos, causando hipoadiponectinemia como la que existe en la diabetes II, en la enfermedad cardiovascular y en la lipodistrofia del sida. El SRI de la obesidad está asociado con disminución de la síntesis de adiponectina en los adipocitos (además de la liberación de ácidos grasos libres y de leptina).

La adiponectinemia según vieron Choi y cols. (2004) en 338

mujeres coreanas con una edad media de 72,3 \pm 5,5 años está correlacionada negativamente con los índices de obesidad como el perímetro de la cintura ($r=-0,27$, $P<0,001$) y la razón cintura/cadera (WHR) ($r=-0,32$, $P<0,001$), y con los índices de resistencia a la insulina como la insulinemia en ayunas ($r=-0,17$, $P=0,004$) y HOMA-R ($r=-0,13$, $P=0,035$) sin que hubiera correlación con la ghrelina ($r=0,03$, $P=0,66$). La adiponectinemia está aumentada en la insuficiencia renal crónica y en la anorexia nerviosa. La administración de adiponectina induce pérdida de peso en ratones sometidos a una dieta, con alto contenido graso por el aumento de oxidación de los ácidos grasos libres en el músculo, sin causar anorexia.

La adiponectina actúa por medio de los receptores AdipoR1 que se expresan abundantemente en el músculo esquelético y por el AdipoR2 que lo hace en el hígado y ambos en las células beta pancreáticas; también disponen de receptores las neuronas. Los dos receptores activados, al igual que la insulina, la hiperglucemia, y la leptina, que lo hace a través del receptor de la melanocortina, inhiben a la AMPK es decir a la serin/treonin quinasa activada por el AMP, que actúa sobre el NPY en el arcuatus, en el hipotálamo paraventricular y en otras regiones hipotalámicas. También interviene en la vía del PPAR α todo lo cual lleva a aumentar la captación y la disponibilidad dependiente del óxido nítrico, de la glucosa y a disminuir la glucogenogénesis. Por eso la adiponectina aumenta al igual que la IL-6, la sensibilidad a la insulina. La adiponectina mimetiza muchos efectos metabólicos de la insulina, disminuye la resistencia a esta hormona, la dislipidemia y la adhesión a las células endoteliales, mejora el riego sanguíneo protegiendo de la aterosclerosis. Es sinérgica con la leptina.

La adiponectina es angiogénica. Los ratones adiponectina knock-out tienen disminuida la angiogénesis reparadora de las lesiones isquémicas, como lo demuestra el Doppler laser y la densidad capilar. La reconstrucción genética utilizando como vector adenovirus acelera la angiogénesis reparadora en ratones silvestres y noqueados. La inyección intramuscular de un adenovirus con gen AMPK disminuye la angiogénesis de la adiponectina.

Choi y cols. (2004) encontraron escasas diferencias entre los niveles de adiponectinemia entre 1999 y 2002 ($P=0,61$) en 372 viejos coreanos que habían participado en el estudio «South-West Seoul». La adiponectinemia estaba estrechamente relacionada con los factores de riesgo de la enfermedad cardiovascular, negativa con el

IMC, WHR, presión arterial y niveles de trigliceridemia y glicemia, y positivamente con los de HDL-colesterol. Los que tenían síndrome metabólico tenían menor adiponectinemia que los que no tenían el síndrome ($P < 0,0001$). La adiponectinemia basal estaba correlacionada con los niveles del WHR, del LDL-colesterol en ayunas y tras la sobrecarga de glucosa las personas con adiponectinemia basal baja desarrollaban más frecuentemente diabetes 2 y el síndrome metabólico después de ajustar la edad, el sexo, la obesidad, la hiperglucemia, la resistencia a la glucosa y la hipertensión. Es decir que el impacto de la baja adiponectinemia es independiente de los otros factores de riesgo para la diabetes 2 para el síndrome metabólico.

Abate y cols., habían observado en indios incluso en los de peso normal, una gran resistencia a la insulina, lo que les llevó a pensar que la resistencia a la insulina en indios o diabéticos era diferente de la menos frecuente de los caucásicos de similar edad y composición corporal. En 2004 compararon a 69 indios con 61 caucásicos, encontrando mayor concentración de ácidos grasos libres ($P < 0,0001$) y de leptina ($P = 0,003$) y menor de adiponectinemia ($P = 0,009$) no explicable por el contenido de grasa del cuerpo ni por su distribución. Los tests de tolerancia oral a la glucosa demostraron que los varones caucásicos se liberaban mejor de los ácidos grasos libres en el plasma que los indios, que la adiponectina era menor en los indios insulínresistentes respecto a los más sensibles caucásicos, sin que esas diferencias pudieran contribuir a la excesiva prevalencia de diabetes 2 y de enfermedad cardiovascular en los indios no obesos.

En el suero se presenta la adiponectina en tres isoformas, la HMW, de alto pm, la trimérica y la hexamérica. La proporción de la isoforma HMW, respecto a la total es, significativamente menor en enfermos con coronariopatía, que en los controles (Kobayashi y cols. (2004), siendo similar la de la formas hexamérica y la de la trimérica significativamente mayor. Durante la reducción del peso en los obesos, la forma HMW aumenta, mientras que disminuyen las otras. La adiponectina HMW o la recombinante pero no las otras isoformas suprimen dosis-dependiente la apoptosis y la caspasa-3 en las células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVECs), es decir, que específicamente protege a los vasos de la ateromatosis. Este efecto protector desaparece con la AMPK.

Por aumentar la sensibilidad a la insulina, y por su acción anti-

inflamatoria y antiaterogénica la adiponectina podría ser un medicamento útil, especialmente en los hipoadiponectinémicos y en la vasculopatías de los diabéticos. Shimada y cols. (2004) recomendaron para prevenir la aterosclerosis, beber 1 litro de té Oolong al día ya que al mes aumentó significativamente la adiponectinemia y el tamaño de las LDLc.

6.º CORTISOL. Los adipocitos pueden producir cortisol a partir de su precursor la corticosterona, más potente que éste. Como el tejido adiposo es un órgano diana de los glucocorticoides y por ellos o por el eje hipotálamo-hipofiso-suprarrenal hay que concluir que los adipocitos modulan los efectos de los glucocorticoides (Paulymer-Lacroix y cols. 2003) y por tanto el estrés. Las personas deprimidas suelen tener niveles altos de cortisol. En el Cushing hay exceso de corticoides especialmente de cortisol en relación con la depresión y con trastornos cognitivos, atrofia del hipocampo, obesidad abdominal y con osteoporosis. En los enfemos de Cushing y algo menos en la depresión son frecuentes la hipertensión, diabetes, úlceras pépticas e hiperlipidemia, sin que exista relación con la hiperlipidemia.

7.º Los adipocitos y aún mas las células del estroma adiposo, transforman a los andrógenos, entre ellos a la deshidroepiandrosterona segregada por la corteza suprarrenal (Oberbeck y cols. 1998) por la acción de su aromatasa (Simpson y cols., 1989, Zhao y cols. 1995) en estrona, un estrógeno débil que puede pasar a β -estradiol, el estrógeno por autotomiasia. Los lípidos se acumulan en el adipocito como ester grasoleoil-estrona (Remesar y cols. 1999, Massané y cols. 2003). Los estrógenos favorecen la movilización de la grasa, disminuyen la ingesta y aumentan el gasto energético (Sanchis y cols. 1996), potenciando el crecimiento y el acumulo de grasa es decir controlando el peso. Los adipocitos liberan AGL a la sangre unidos a lipoproteínas (Virgili y cols. 1999), siendo sus niveles circulantes proporcionales a la masa grasa (Fernández-Real y cols. 1999). La infusión continua en vena de 3,5 μ mol/kg-día de oleoil-estrona en liposomas (Merlin-2) a ratas normales mediante minibombas osmóticas durante 14 días, aumenta la expresión del gen ob y de los niveles de leptina, disminuye la ingesta y el peso con un incremento transitorio de los glucocorticoides, manteniéndose el gasto energético; este efecto no se produce a través del neuropépti-

do Y, cuyos niveles en los núcleos hipotalámicos no se modifican (Cabot y cols. 1997). En cambio la infusión de la oleoil-estrona a ratas Zucker fa/fa no cambia la expresión del gen ob ni el nivel de leptina en el suero. (Adán y cols. 1997); es decir que la actividad de la oleoil-estrona depende de la normalidad del receptor de leptina, alterado en las ratas fa/fa.

El hipotálamo detecta los niveles circulantes de oleoil-estrona informando al cerebro de la masa global de grasa. El aumento de peso, observado en las mujeres que toman estrógenos, incluso los anticonceptivos, parece debido a una retención hídrica más que a incremento de tejido adiposo. Wallace y cols. (1987) vieron que mujeres de 20 a 44 años que tomaban contraceptivos orales ingerían más calorías que las que no los tomaban mientras que su IMC y el grosor del pliegue tricípital eran significativamente menores y las mujeres de 45 a 69 años tenían también menor índice de Quetelet. No hubo diferencias en cuanto a la proporción de calorías procedentes de los diversos principios inmediatos. Las diferencias entre las usuarias y las que no tomaban contraceptivos orales podrían atribuirse a diferentes estilos de vida. La oleoil-estrona tiene un gran efecto en la reducción de la resistencia a la insulina, en los niveles circulantes de lípidos (Grasa y cols. 2001) y en el control del peso corporal por lo que se indicó para tratar la obesidad en roedores (Grasa y cols. 2001) y en el hombre (Alémany y cols. 2003).

El aumento de la producción de aromataza por los adipocitos, podría ser la causa del incremento del cáncer genital femenino en la obesidad.

8.º LA RESISTINA. La resistina es un péptido de 114 aminoácidos con una región rica en cisteínas. Se segrega casi exclusivamente por los adipocitos, aunque los macrófagos activados pueden sintetizarla. Interviene en la resistencia a la insulina en el obeso al inactivar a la óxido nítrico sintasa [Steppan y col. 2000], efecto que tiene también la leptina necesaria para que se fosforilice la serina.

Es un nexo entre la obesidad y la diabetes. Tan y cols. (2003) observaron que los diabéticos chinos de tipo 2 que portan el genotipo GG del gen de la resistina tenían más hipertensión con aumento de las tensiones sistólica y diastólica, asociación que no se confirmó en caucásicos ni en japoneses salvo que el polimorfismo en un nucleótido de la región promotora estaba asociado con sensibilidad a la insulina.

9.º ADIPSINA. Es una proteína que con los factores del complemento C3 y B determina en el adipocito la síntesis de la ASP, que incrementa la síntesis de los triacilgliceroles.

10.º ASP. Es la proteína estimuladora de la acilación (acylation stimulating protein) La sintetizan los adipocitos al interactuar los factores C3 y B del complemento y la adipsina. La ASP es orexígena; incrementa la síntesis de triacilgliceroles. Su gen está situado en 20q11,2. Los ratones C31 ASP knock-out tienen retrasado el aclaramiento postprandrial de lípidos, presentan depósitos grasos reducidos y un elevado gasto energético.

11.º PROTEÍNA AGOUTI. Interviene en la regulación del apetito. Bloquea a los receptores de la melanocortina, inhibiendo la respuesta simpática a la leptina en el riñón y en la región lumbar.

12.º El SPARC es una proteína ácida, rica en cisteína (secreted protein acidic and rich in cystein) sintetizada y segregada por los adipocitos.

13.º MIF, acrónimo de la expresión inglesa (macrophage migration inhibitory factor).

14.º LA OSTEONECTINA o BM-40 pertenece al grupo de proteínas matricelulares que modulan la adhesión celular, la diferenciación y la angiogénesis; no es un producto específico de los adipocitos y su expresión se limita a la remodelación tisular (consolidación de fracturas), a la tumorigénesis y a la fibrogénesis (cicatrización). También regula los niveles del PAI-1, pudiendo aumentar este enzima en el plasma en la obesidad; también participa en la hiperplasia y neovascularización del TAB.

15.º PGAR/FIAF es el producto de un gen diana de receptores activados por proliferadores de peroxisomas. Es una proteína secretada del tipo fibrinógeno/angiopoyetina, que se produce predominantemente en el tejido adiposo y en la placenta; su concentración plasmática se eleva durante el ayuno y disminuye con la ingesta crónica de grasa, lo que sugiere un papel en la regulación del metabolismo en condiciones de ayuno.

16.º PPAR γ (contemplado en leptina).

17.° INTERLEUQUINA 6. La IL-6 es un péptido proinflamatorio como el IFN- γ , formado por 212 aminoácidos de los que los 28 amino terminales son esenciales para su actividad. Está codificada por el gen p15.21, del cromosoma 7, que tiene cinco exones, semejante al gen de la G-CSF. El gen se expresa, por los linfocitos T y B, por los fibroblastos, por los queratinocitos, por las células endoteliales vasculares neoformados, por los adipocitos, pero sobre todo por los monocitos-macrófagos activados por virus, por algunas células tumorales, por los lipopolisacáridos, por antígenos y mitógenos de células T, por los cuatro CSF principales los M, G, GM e IL-3, por el AMPc, por el TNF α , el PAF, la prostaglandina E2 activada por la ciclooxigenasa-2 inducible por aceite mineral intraperitoneal y por los inductores de la IL-1, del TNF y por otros proinflamatorios. El gen se transcribe de forma similar a como lo hace el protooncogen c-fos. Los glucocorticoides reprimen la expresión de los genes.

La IL-6 sérica está aumentada en el mieloma múltiple por la proliferación de las células mielomatosas, para las que la IL-6 es un factor de crecimiento autocrino. Por ello su aumento es un signo de mal pronóstico. También segregan abundante IL-6 las células del mixoma cardíaco y las de los cánceres de vejiga y de cervix. El exceso de IL-6 interviene en la patogenia de la enfermedad de Castleman y otras autoinmunes en las que se produce mucha gammaglobulina como la artritis reumatoide.

La IL-6 reacciona con receptores de membrana de varias células, en especial con los de las células progenitoras CD34, los monocitos periféricos, los granulocitos, los linfocitos T CD4, CD8 y CD19, los B, las NK células cuyas membranas expresan varios cientos de miles de receptores (IL-6R), por célula (menos los CD8), de los que el 90% son de baja afinidad. Están formados al menos por una cadena de unión de 80 kD y por una glicoproteína de 130 kD que se une a la subunidad anterior cuando lo ha hecho la IL-6.

La reacción de la IL-6 con su receptor en muchas células inmaduras, especialmente con las hematopoyéticas, aumenta la expresión del receptor y acelera la diferenciación celular esencial al menos para la de los linfocitos B.

La IL-6, al igual que el TNF y que la IL-1 disminuyen la síntesis de albúmina por el hepatocito pero lo inducen a que produzca proteínas reactantes de la fase aguda de la inflamación entre ellas el fibrinógeno, la proteína C reactiva, la haptoglobina y la proteína

sérica A del amiloide, que al actuar sobre el SNC, causan fiebre, somnolencia y anorexia. La disregulación de las proteínas reactantes origina inflamaciones crónicas estando elevada en el líquido sinovial de la artritis reumatoide y en el mieloma múltiple.

La IL-6 es un factor de crecimiento celular, a lo que se debe los nombres que se le dieron inicialmente de «Factor- 2 estimulante de las células B» (BSF2) o «Factor de diferenciación de los linfocitos B»(BCDF), o Factor estimulante del hepatocito, o Factor de crecimiento del plasmocitoma/hibridoma e incluso interferón pese a que carece de las propiedades de estos. La IL-6 promueve la diferenciación de los linfocitos T citotóxicos a partir de los timocitos y de los linfocitos T maduros. La IL-6 como el TNF- α y la IL-1 añaden señales «accesorias» para que proliferen los linfocitos T dependiente de IL-2, en respuesta al antígeno. La IL-6 promueve la diferenciación de los linfocitos B activados hacia células secretoras de anti-cuerpos.

La IL-6 es angiogénica, propiedad que puede ser negativa en la tumorigénesis. El exceso de grasa abdominal disminuye a la IL-6 (y a la adiponectina), aumentando la resistencia a la insulina y con el riesgo de enfermedad cardiovascular. (Ibáñez y cols. 2004).

18.º PERILIPINA. Es un orexígeno. Los animales carentes de su gen tienen una actividad elevada de lipasa hormono-sensible; son hiperfágicos y delgados y sus adipocitos son pequeños.

19.º INTERLEUQUINA-8. La IL-8 pertenece a una familia de quimioquinas formada por polipéptidos de sólo 8-11 kD, entre ellos la proteína básica de las plaquetas «PBP», el Factor 4 de las plaquetas «PF4» y el INF; tiene dos subfamilias, la alfa en la que se incluye la IL-8, cuyo gen está en el cromosoma 4 y las beta en el 17. Las quimiocinas son potentes factores quimiotácticos para los neutrófilos, basófilos, para los linfocitos T CD4+ CD8+ para los fibroblastos y para células del melanoma. Actúan y aumentan la expresión de integrinas (b2 en los PMN su motilidad y la adhesividad a las células endoteliales, facilitando la diapédesis y la extravasación de los leucocitos. Por ello, tienen un papel crítico como iniciadoras y promotoras de las reacciones inflamatorias.

El gen que codifica la IL-8 se encuentra en el cromosoma 4 (4q12-21), en una zona próxima a los genes del PF4 y del INF. El gen se expresa en las células endoteliales, los monocitos-macrófagos,

los fibroblastos, las células endoteliales, los linfocitos T, los queratinocitos, las células sinoviales y los condrocitos y probablemente por los PMN. La IL8 no se sintetiza en los adipocitos sino por células no grasas del tejido adiposo, de las que pasa a los adipocitos en donde se acumula y vierten a la sangre; por ello los obesos tienen elevada su concentración plasmática. El tejido adiposo visceral, tiene doble cantidad de su ARNm y cuatro veces más IL-8 que el situado subcutáneamente ($P < 0,05$) y $< 0,01$ respectivamente). El gen codifica a un precursor de 99 aminoácidos, muy rico en cisteína, que es hidrolizado a 79 y a 72 aminoácidos.

La IL-8 se sintetiza en respuesta a virus, a los LPS o a estímulos endógenos, como las citoquinas IL-1a, la IL-1 E, el TNF- α , el polipéptido NAP-2 o Péptido Activador de los Neutrófilos y el péptido GRO α , o Factor estimulador del crecimiento de los melanocitos. La dexametasona a una concentración de 50 nM reduce a la mitad la producción de IL-8 mientras que la de 2 microg/1 de IL-113 la aumenta 15 veces ($P < 0,001$). La liberación de IL-8 de explantes se correlacionan con el IMC ($r = 0,78$; $P < 0,001$), al igual lo hacen las células no grasas ($r = 0,79$; $P < 0,001$).

La IL-8 se une a los receptores de membrana de los PMN cada uno de los cuales tiene 20.000 a 75.000 receptores; el receptor tiene siete segmentos activando quimiotácticamente (Conlon y cols. 1990) al igual que los polipéptidos NAP-2 y GRO α a los granulocitos. La inyección intradérmica de IL-8 produce exudación y acúmulo de neutrófilos, en especial alrededor de las vénulas de la dermis, sin causar el habón que desencadena la histamina o el C5a, sin causar prurito ni dolor. El efecto se potencia, si actuaron factores vasodilatadores como la prostaglandina PGE2. El acúmulo de neutrófilos, y el reclutamiento de los mismos, perdura durante varias horas, cosa que no ocurre con el PAF ni con el C5a. Los mastocitos activados por la IL-8 cambian de forma, aumentan su actividad respiratoria y producen histamina y leucotrienos.

No produce fiebre ni proteínas de fase aguda, pero causa neutrofilia. Se detecta en la circulación de pacientes con enfermedades inflamatorias y traumatismos extensos en la sinovial de la artritis reumatoide y en las lesiones psoriásicas, estando implicada en numerosas enfermedades inflamatorias, agudas y crónicas. La IL-8 favorece la producción del SRI y sus consecuencias (Bruun y cols. 2004).

20.° EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF- α). El TNF α , el TNF β y la linfotoxina-d (dT) son citoquinas es decir mediadores que transmiten señales intercelulares. Los genes, ya clonados en la *E. coli*, comparten la mayoría de las secuencias de sus bases y por consiguiente los tres TNF comparten la mayoría de sus secuencias de aminoácidos, lo que evita reacciones cruzadas entre un TNF y los anticuerpos frente a otro. No tienen, como el INF, especificidad de especie. Son antilipogénicas y fuertemente lipolíticas (Porter y cols. 2002).

Son polipéptidos triméricos de 17 kD, unidos entre si por puentes disulfuro. La forma monomérica inactiva funcionalmente, se puede encontrar en cantidades elevadas en fluidos corporales que conservan antigenicidad de modo que las pruebas inmunológicas pueden sobrevalorar la tasa de TNF activo.

El TNF β es sintetizado por los linfos Tc humanos y la linfotoxina-d (dT) por los linfos B estimulados. La producción de TNF α (en adelante TNF), está regulada por antígenos del sistema HLA en los macrófagos, en las células epiteliales, cuya producción (así como la de la IL-1), aumentan los UV, en las endoteliales, en los linfocitos T activados, en las NK activadas en los ratones por sus células blanco, las WEHI-164, pero no en las YAC-1, y en los adipocitos, especialmente de los obesos que tienen aumentada la expresión de TNF α (Hernández y cols.) y que, por tanto, tienen mayor concentración en sangre en situaciones basales y tras su estimulación. Actualmente el TNF se obtiene por recombinación genética.

Inducción de TNF. En 1943, Shear y cols. demostraron que el componente de las bacterias gram-negativas que causaba la necrosis de los tumores era el lipopolisacárido, LPS, endotoxina constituyente de su pared, capaz de desencadenaba un choque séptico a mentido mortal; a dosis ligeramente menores de las letales, causaba fiebre aumentando la resistencia del animal a dosis letales de rayos X, y a infecciones por bacterias y plasmodios y los macrófagos y linfocitos de los animales inoculados con LPS, eran capaces de destruir al *T. cruzi* y a las bilharzias. Se demostró que ni la BCG, ni el LPS son antitumorales directos sino por la activación de un factor del huésped y efectivamente, hacia 1975 Old con Elizabeth Carswell, Robert Kassel y Barbara Williamson con sus colaboradores, descubrieron en el Centro Oncológico Sloanring Memorial, que con independencia de la actividad antileucémica de la sangre del ratón normal, la de los animales inoculados con LPS o con BCG de-

terminaba necrosis hemorrágica de los tumores establecidos y resistencia al crecimiento de los tumoral, siendo muy citotóxico para las células cancerosas *in vitro*. Había que deducir que los ratones, las ratas, los conejos, y cobayas inyectados con BCG y con LPS elaboraban grandes cantidades de un factor destructor del cáncer. Esa substancia era un pequeño péptido elaborado en infecciones bacterianas, que denominaron «Factor de necrosis tumoral» (TNF) utilizable para tratar el cáncer en el hombre y al que se deben varios de los efectos de la BCG y del LPS.

El TNF se sintetiza principalmente en los macrófagos activados por la BCG o por el LPS de modo que la unión de estos a células tumorales, destruía a estas. Enseguida se aisló purificó y concentró al péptido, proceso laborioso que se efectuaba en varias fases al final de cada una había que demostrar la persistencia del factor. Green obtuvo bastante purificado el factor, confirmando su acción antitumoral sobre tumores animales y sobre células malignas cultivadas. Beutler y cols. en 1987, demostraron que la «caquectina», substancia presente en el sobrenadante de cultivos de monocitos y de macrófagos estimulados, que causaba caquexia a los ratones inyectados repetidamente tenía la misma secuencia aminoacídica que la del TNF.

El TNF actúa uniéndose a los receptores de alta afinidad, específicos y comunes a los tres TNF, denominados «TNF-R» que se expresan en las membranas de las células diana, que son todas las del sistema inmune excepto las T, aunque si lo son una vez activados por ejemplo con el antígeno.

El TNF α es el principal regulador de la inflamación y de la inmunidad, procesos interrelacionados que limitan y reparan las lesiones causadas por infecciones y por radiaciones.

A nivel sistémico, el TNF es la causa del shock endotóxico y del shock tóxico causado por exotoxinas estafilocócicas y estreptocócicas y de la caquexia por infecciones y por el cáncer. La mayoría de los efectos sistémicos de la endotoxina se deben a su acción proinflamatoria causada por el TNF circulante. La inyección intravenosa de TNF produce fiebre, hipotensión, leucopenia con granulocitopenia seguida posteriormente de leucocitosis y aumento de la IL-6 circulante. El TNF activa el sistema de la coagulación, incluido el PAI-1, disminuyendo por ello la fibrinólisis, respuesta parecida a lo que ocurre en las infecciones agudas y en las inflamaciones.

Hay clara asociación entre los niveles de TNF α y los cuadros de sepsis, y su pronóstico, siendo extraordinariamente elevados en la

sepsis meningocócica y aun mayor en su forma fulminante. Los anticuerpos contra el TNF α revierten la gravedad del shock séptico experimental, y muy probablemente lo esté en el hombre. Las diferencias evolutivas de la enfermedad meníngea podrían deberse a variaciones de la virulencia de los microorganismos, pero también a diferentes concentraciones del TNF de modo que cualquier factor que intervenga en la secreción de TNF α puede influir en la gravedad de la infección meningocócica. La infusión de un anticuerpo neutralizante de TNF evita la muerte del ratón afecto de paludismo cerebral. En este efecto es importante el tipo de polimorfismo del TNF. La base 308 de la zona promotora del gen del TNF α , puede ser guanosina en el alelo 1 o TNF-1 o adenosina en el alelo 2 o TNF-2; cuando el alelo 1 supera al 2, aumenta la expresión del TNF. La gravedad de la meningococemia es proporcional a la del alelo TNF-2, de modo que la homocigotia de TNF-2 aunque no predispone a tener meningococemias, si se tiene, su gravedad es muchísimo mayor. El riesgo relativo de morir de los heterocigóticos, TNF-1/TNF-2, es 2,5 respecto a los TNF-1/TNF-1, probablemente por una mas potente respuesta inflamatoria. La frecuencia del alelo TNF-2 en los palúdicos sin afectación cerebral, es similar a la de los controles no palúdicos, pero los que mueren de malaria cerebral tienen niveles más altos de TNF α plasmático que los que tienen malaria no complicada; la susceptibilidad a padecer paludismo cerebral reside en el homocigotismo TNF-2/TNF-2, como se ha visto en los niños de Gambia.

El TNF α interviene en los procesos inflamatorios crónicos, estando elevado en el líquido sinovial de las artritis reumatoide, en la idiopática juvenil y en la psoriásica, así como de otras enfermedades reumáticas y autoinmunes, cuyos efectos atenúan o evitan los anticuerpos como el monoclonal específico del TNF, el infliximab o la quimera etanercept proteína de 934 aminoácidos de unos 150 kd obtenida por fusión de dos copias de la secuencia que codifica el fragmento extracelular del receptor p75 del TNF humano, obtenido por la técnica del ADN recombinante en el ovario del hámster chino (CHO), unidas a la fracción constante (Fc) de IgG1 humana que contiene la región bisagra.

El TNF tiene una amplia variedad de efectos, entre los cuales destacamos:

a) Activa con la intervención de otras citoquinas a los timocitos inmaduros CD3+4+8+ que son las células mas numerosas del

timo. Con la IL-2 coestimula la proliferación de los timocitos maduros CD3+4+ y a los CD3+8+ induciendo la secreción de IL-6 y la de IL-2Ra. El TNF o la IL-2 pueden hacer proliferar a los timocitos más inmaduros o pretimocitos CD3-4-8

b) Activa la multiplicación y diferenciación de las células de la médula (acción que tienen también las IL-1 y 6, el INF- γ , y los CM-CMS, C-CMS y M-CMS. Activa y regula, como hace la IL-1 a los monocitos-macrófagos haciéndolos que sintetizen IL-1 y prostaglandinas.

c) Como el IL-1 y el IL-6 el TNF α proporciona señales «accesorias» para promover la proliferación de los linfocitos T especialmente de la dependiente de IL-2, en respuesta a estímulos antigénicos, incluyendo la expresión de los receptores para IL-2. (que también lo son por la IL-1, por el TGF- β y por el IFN- α).

d) Induce la síntesis y paso a la circulación de IL-1 y de IL-6 producidas por los monocitos, los fibroblastos y las células endoteliales. A su vez estas citoquinas aumentan la acción del TNF sobre los linfocitos.

e) Estimulan la producción de IL-8 y de CSF, quimiotácticos de los PMN que favorecen su extravasación.

f) El TNF α y el TNF β inducen la proliferación de los linfocitos B activados, (también son estimulados por las IL-1 y 6, el TGF-O' y el IFN- α).

g) Activa a los PMN (como lo hace el CM-CSF).

h) El TNF en sinergia con el IFN induce la expresión de moléculas HLA de clases I y II.

i) Sinérgico con el INF como anticanceroso.

j) Activa a los fibroblastos, efecto que también tienen la IL-1, el TGF y el PDGF. A través de los fibroblastos, estimula el crecimiento y la síntesis de prostaglandinas, colagenasas y de IL-6.

k) Activa y regula a las células endoteliales sobre las que tiene actividad procoagulante, produciendo prostaciclina de acción vasodilatadora y antiagregante plaquetario, aumentando la expresión de las moléculas de adhesión, ICAM-1 y 2 y ELAM, que favorecen la adhesión de los leucocitos y su extravasación (efecto que también produce en epitelios). También activa a las células sinoviales

l) Estimula el metabolismo del ácido araquidónico en las células trofoblásticas.

En su presencia las cultivadas producen PGI₂, PGE₂ y PAF. (al igual que las IL-1. TGF). Altera la expresión del COX-2 en las células

las trofoblásticas durante los primeros meses del embarazo, efecto que inhibe la dexametasona.

m) Los TNF regulan la remodelación ósea en sentido contrario al IFN-6. Además causa osteolisis, degrada al cartílago, reabsorción ósea con osteoporosis y cartilaginosa.

n) El TNF- α y la C2-ceramida, producida por el TNF, reducen al promotor C/EBPa del GLUT4 disminuyendo la expresión del gen del GLUT 4 que induciría la insulina (Valverde y cols. 1998) y además los genes que siguen expresándose, transcriben su ARNm pero éste no es utilizado por los ribosomas y no se forma GLUT4 como vieron Jain y cols. (1999), en la línea de los adipocitos 3T3-L1. Energico citostático o citolítico para algunas células como las de la línea celular L-929 y muchas tumorales.

El TNF α es antitumoral (también los interferones), produciendo una extensa necrosis hemorrágica en varias líneas celulares tumorales, y en los tumores experimentales inyectado intralesionalmente. La acción antitumoral es directa sobre las células tumorales e indirecta a través de radicales libres de oxígeno, que fragmentan a la membrana nuclear y al ADN, por lo que las células tumorales que producen superóxido dismutasa resisten al TNF. (Asher y cols. 1987). Hay que recordar el efecto sobre la angiogénesis del TNF.

El TNF fue descubierto gracias a su acción antitumoral. En algunos enfermos con cáncer el desarrollo de infecciones bacterianas coincidía con disminución del tamaño del tumor. William B. Coley, cirujano del Hospital Memorial de Nueva York entre 1892 y 1931, con otros colegas, observaron lo mismo tras la inoculación de bacterias vivas a cancerosos e intuyeron que ciertos agentes infecciosos, o sus productos, tenían acción anticanceros pero no siempre se lograba la infección, y a veces esta era letal. Para evitar la muerte, Coley inoculó a pacientes vacunas muertas, las toxinas de Coley, las cuales causaban fiebre y escalofríos síntomas de infección bacteriana. La Dra. Helen Coley Nauts, hija del Dr. Coley, del Instituto de investigación del Cáncer, difundió entre los médicos los resultados obtenidos por su padre. La inyección a ratones con tumores, de pequeñas cantidades de bacterias gram-negativas, vivas o muertas, podía provocar la necrosis hemorrágica del tumor que se oscurecía y secaba. Recordemos que durante mucho tiempo se empleó la piroterapia mediante la inyección intramuscular de sangre, incluso del propio enfermo o tapioca etc. para tratar ciertos procesos y sobre todo la inoculación de plasmidios para tratar enfermos mentales.

Hacia 1958, Baruj Benacerraf, del Hospital Clínico de la Universidad de Nueva York, y Old encontraron que el bacilo de Calmette-Guerin, o BCG, bacilo tuberculoso bovino atenuado por pases en patata en medio con bilis causaba en ratones, una infección autolimitada, quedando los animales resistentes a la inoculación de bacilos tuberculosos y al crecimiento tumoral. Luego se emplearon inyecciones intradérmicas de la BCG como antitumoral y actualmente se instala en vejiga en casos de adenocarcinoma vesical.

La administración sistémica de TNF, inhibe al tumor en una proporción escasa de pacientes; la inyección en la asa tumoral ha logrado mejores resultados pero el intenso cuadro gripal con fiebre, escalofríos, letargia e hipotensión desaconseja su empleo. Asociado con el sinérgico IFN causa un fuerte dolor agudo, posiblemente por lesión vascular.

21.º Los adipocitos segregan además varias prostaglandinas, un factor relacionado con la angiopoyetina (PGAR) y el factor inducido por el ayuno o FIAF.

22.º La lipólisis de los TGL en los adipocitos lleva ácidos grasos a la circulación portal y a la sistémica, determinando anomalías metabólicas asociadas con la obesidad abdominal como la resistencia a la insulina. Uno de esos ácidos grasos estimula la síntesis hepática de un factor que aumenta la síntesis adrenal de aldosterona (Goodfriend y cols. 1998, 1999), que también estimula el eje RA.

Bibliografía: A disposición de los interesados.

INTERVENCIONES

Prof. Pérez Pérez

Mi felicitación al Prof. Domínguez Carmona por esta magnífica conferencia, preciosa conferencia y muy fundada desde el punto de vista bioquímico. En realidad, podríamos sintetizar todo esto en lo siguiente, la obesidad, la bulimia, una saciedad y una apetencia inmensa por alimentos, el tema preocupante de la sociedad moderna y hay que señalar que los lipocitos nacen con el individuo, y por lo tanto aquí el carácter hereditario tan tendente que tiene la obe-

sidad desde este punto de vista. La obesidad está muy mal considerada como una enfermedad que conduce al materialismo y a la sexualidad; por otra parte, la anorexia, odio por los alimentos, da por el contrario una actividad espiritual enorme, y es por esto que los ermitaños se retiraban a hacer ayuno y a adelgazar.

Aquí hay dos cosas importantes, el tejido adiposo blanco y el tejido adiposo marrón tienen consideraciones muy distintas desde el punto de vista de la biología comparada. El tejido adiposo marrón es la consecuencia de estos adipositos que ha llamado muy bien células maravillosas porque no son células simplemente, sino que son ordenadores de todo el metabolismo a través de reacciones diversas, pero hay que decir claramente que el tejido adiposo blanco es el que suministra la energía cotidiana al propio ser, pero sin embargo, el tejido adiposo marrón es muy importante porque suministra la energía cuando el animal o el hombre no consume alimentos y tiene gran importancia en el recién nacido, en el niño, en las aves nidófilas y enorme importancia para explicar el fenómeno de la hibernación y durante este periodo el animal no consume energía pero la moviliza. Este tejido adiposo marrón, que tiene menor número de mitocondrias que el blanco lentamente va produciendo la energía y las calorías suficientes para pasar el invierno sin comer. Éste es un tema realmente importante porque además desde el punto de vista de la industria animal tiene gran interés, en el sentido de que el acúmulo de tejido adiposo marrón es fundamental para establecer ciclos que no necesiten una alimentación tan diaria, tan apremiante, porque son reservas energéticas preciosas.

Prof. Sanz Esponera

Me sumo lógicamente a la felicitación al Prof. Domínguez Carmona. Realmente yo creo que ha puesto un poco el dedo en la llaga, ya que el adipocito ha sido la célula olvidada, se ha considerado como una célula que los histólogos consideraban como una célula de depósito en la cual llegan las células maduras sin ningún tipo de capacidad metabólica más que la de liberar los ácidos grasos. Sin embargo, hoy día es sorprendente el número de publicaciones que se relacionan con el metabolismo y la participación de los adipocitos en distintos tipos como la traumatosis, la hipertensión, la obesidad, etc.

Realmente, lo que más sorprende es lo que hay en nuestro organismo es una gran plasticidad celular, es decir, las células son capaces en cierto momentos, con ciertos estímulos y no sólo por la localización, sino por una serie de receptores específicos, de adquirir una serie de funciones que en un momento determinado son muy importantes. Yo creo que lo que nos ha demostrado hoy son todas la posibilidades y potencialidades que tiene el adipocito en participar con otros sistemas, como puede ser el sistema neuroendocrino, todos los sistemas de péptidos, etc.. El sistema mononuclear fagocítico es el que verdaderamente participa en el factor de crecimiento tumoral. Yo por ello creo que es un tema apasionante, un tema sobre el que se están haciendo un gran número de publicaciones sobre el adipocito, esta célula adulta, madura y activa metabólicamente.

Prof. Rodríguez Rodríguez

Hace unos días me comentaban ¿por qué manda calcio a las osteoporóticas con leche descremada? Porque se absorbe mejor. Independientemente de lo genético hay menos osteoporosis en las mujeres obesas que en las delgadas, por el adipocito, porque las leptinas actúan conjuntamente con las calcitoninas e intervienen en la actividad física. Los citocromos C actúan con las lanzaderas y los mitocondriales. Cuando en las osteoporosis postmenopáusicas ya no hay estrona o estradiol lo produce el adipocito, y no los primarios que actúan en la osteoporosis, en la formación osteoblástica. Los segundos, los dianas, las interlucinas 6 que actúan a través de los mecanismos parecidos a las insulinas, también actúan en las osteoporosis. El alfa FNT actúa como mediador y por eso ahora sabemos mucho más del adipocito.

CONTESTACIÓN DEL PROF. DOMÍNGUEZ CARMONA

Muchas gracias a los queridos compañeros y amigos, que con sus intervenciones acrecientan el valor que pudiera tener mi aportación al conocimiento del adipocito, célula que, como todas, es prodigiosa. Con el mayor laconismo posible comento a la valiosa aportación del Prof. Félix Sanz que, aunque los dos tipos de adipocitos blanco

y pardo, tienen funciones iguales: la del pardo tiene la importante propiedad de dirigir la energía liberada por los ácidos grasos depositados en los adipocitos al metabolizarse, hacia el calor, en lugar de hacerlo hacia el movimiento o la síntesis; es decir, cambiar un coche con gran rendimiento energético en una estufa y esto lo hace el adipocito pardo por medio de una proteína desacopladora que produce las termogeninas, que permite a los animales hibernantes resistir las bajas temperaturas del invierno y en todos contribuyendo a la homeotermia y a la masa corporal. Tiene razón el profesor Sanz Esponera en decirnos que es sorprendente la gran plasticidad de los adipocitos, por ejemplo, el pasar un adipocito blanco a pardo, que permite que el tejido adiposo se hipertrofie o se hiperplasia. Como sabe mil veces mejor que yo el Prof. Sanz Esponera, las células recién nacidas en la mitosis empieza a crecer hasta llegar a la talla crítica que en el adipocito es de 10 micras de diámetro medio. La talla celular constituye un importante mecanismo activador de la división celular que, si no se compensa con la disminución celular, lleva a la hiperplasia, pero si la talla crítica se modifica, el adipocito aumenta su talla y llega a tener 100 micras antes de entrar en mitosis, es decir, se ha producido la hipertrofia.

Efectivamente, como nos dice muy bien el Prof. Rodríguez, la osteoporosis es una de las muchas enfermedades relacionadas con la obesidad. La propia leptina y el neuropéptido Y a través del cual actúa en regulación del apetito, tienen un importantísimo papel en el desarrollo fetal y en el desencadenamiento de la pubertad, es decir, tienen actividad plástica. La leptina producida por los adipocitos hace que éstos intervengan en la regulación del metabolismo del tejido óseo en sentido osteoblástico y osteoclástico, de acuerdo con las citoquinas que el adipocito esté segregando. El adipocito lleva al hueso hacia la osteoporosis o a aumento de su mineralización y resistencia.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Dos magníficas ponencias. La conferencia del Prof. Casado de Frías me ha llevado a recuerdos importantes de trabajos que realizamos hace años. Me refiero a los bicenilos ploiriclorados, productores de porfiria, que es por donde yo he llegado al conocimiento de estos compuestos, que producen también alteraciones disencimá-

ticas y endocrinopáticas que ha glosado muy bien el profesor. Le felicito por ello y sobre todo por el apunte importante que ha hecho en cuanto a alteraciones epidemiológicas que en la niñez existen con notoria frecuencia y relacionado con todos estos procesos.

La otra ponencia de gran interés, la pronunciada por el Prof. Domínguez Carmona, ha tratado del adiposito, muy relacionado con la obesidad. Ha hecho una magnífica exposición, no muy fácil de entender porque superaba la capacidad que los oyentes tenían para ordenar toda la información. Yo le felicito, al igual que al Prof. Casado porque han hecho una exposición perfecta, científica, de gran profundidad fisiopatológica. Muchas gracias por vuestro esfuerzo y magnífica actuación.

Se levanta la sesión.

X SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 26 DE ABRIL DE 2005

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

**EFFECTO DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO POR VÍA
ORAL SOBRE EL CONTROL DEL APETITO
(UNA NUEVA TEORÍA PARA LA EPIDEMIA
DE LA OBESIDAD)**

***EFFECT OF MONOSODIUM GLUTAMATE
GIVEN ORALLY ON APPETITE CONTROL
(A NEW THEORY FOR THE OBESITY EPIDEMICS)***

Por el Excmo. Sr. D. JESÚS A. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES HERNÁNDEZ

Académico de Número

**LA IDEA ES MÁS IMPORTANTE QUE
EL EXPERIMENTO**

***THE IDEA IS MORE IMPORTANT THAN
THE EXPERIMENT***

Por el Dr. JOHN MARTIN

Miembro de la Academia Británica de Medicina

EFEECTO DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO POR VÍA ORAL SOBRE EL CONTROL DEL APETITO (UNA NUEVA TEORÍA PARA LA EPIDEMIA DE LA OBESIDAD)

EFFECT OF MONOSODIUM GLUTAMATE GIVEN ORALLY ON APPETITE CONTROL (A NEW THEORY FOR THE OBESITY EPIDEMICS)

Por el Excmo. Sr. D. JESÚS A. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES HERNÁNDEZ *

Académico de Número

Resumen

El glutamato monosódico (MSG) es una sustancia empleada como saborizante en proporciones cada vez mayores a nivel mundial y está considerada como inocua por las agencias sanitarias europea y americana. Se ha analizado el efecto que sobre el control del apetito y la secreción de algunas hormonas tiene la administración oral de MSG en ratas durante la última mitad de la gestación y todo el desarrollo de las crías. Se comparan los efectos con la administración parenteral neonatal. Se han estudiado las lesiones generadas a nivel del núcleo arcuato del hipotálamo y los efectos sobre los niveles plasmáticos de GH, IGF-1 y leptina y su repercusión sobre consumo de alimento a los 30 y 90 días de vida. Se observa una destrucción del núcleo arcuato que es máxima en la administración parenteral neonatal pero también está afectado en la dosis más alta oral. Hay una disminución significativa de los niveles de GH e IGF 1 que es más evidente a los 30 días. Disminuyen los niveles de leptina en los dos grupos con MSG oral y se incrementa significativamente la ingesta de alimento y de agua. En conclusión, la administración oral de MSG durante la gestación y el desarrollo en ratas afecta significativamente el control hipotalámico de varias hormonas e incrementa el apetito.

* Con la colaboración de Ana Paula García, Michael Hermannssen, Verónica Salazar, Ana C. F. Tresguerres y Carmen Ariznavarreta.

Abstract

Monosodium glutamate is a substance widely used as flavouring agent in the whole world. It is considered to be innocuous by the health agencies of North America and Europe. The effects of the oral administration of two dosages of MSG during the second half of pregnancy and all The developmental process of pups on appetite control and various hormones has been analysed in rats. Effects have been compared with the neonatal parenteral administration of the same compound. The structure of the arcuate nucleus of the hypothalamus has been investigated as well as plasma levels of GH, IGF-1 and leptin and its influence on food consumption. Measurements were performed at 30 and 90 days of life. A nearly total destruction of the arcuate nucleus can be observed with the parenteral administration of MSG but also with the highest oral dose. Significant reductions can be seen in plasma GH and IGF 1 levels at 30 days of life, that are partially recovered at 90 days. Plasma leptin levels are significantly reduced at 90 days of life with the two oral doses together with a significant increase in food intake. In conclusion, oral administration of MSG during pregnancy and development in rats is able to significantly affect hypothalamic control of various hormones and increases appetite.

INTRODUCCIÓN

La obesidad supone hoy día una epidemia de proporciones gigantescas a nivel del primer mundo (McLellan 2002). El peso de los conscriptos de Alemania, Austria, Noruega y Reino Unido aumenta del orden de 400 gr por año, mientras que en todos estos países la estatura ha dejado ya de incrementarse (Hermanussen *et al.*, 2001).

Se han descrito algunas causas poco frecuentes de obesidad debidas a alteraciones monogénicas, como la delección del gen *ob* de la leptina (Strobel *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1994) o de su receptor (Clement *et al.*, 1998) o la mutación del receptor de la melanocortina 4 (Farooqi *et al.*, 2000) o de la POMC (Krude *et al.*, 1998). Sin embargo, la mayoría de los pacientes parece tener una etiopatogenia multifactorial. La abundancia de grasa en la ingestas unida a la escasez de ejercicio (Robinson, 2001; Votruba *et al.*, 2000) se consideran como factores responsables del problema. Sin embargo, no se ha tenido en cuenta la posibilidad de que exista también un aumento del apetito posiblemente debido a causas ambientales.

A principios del siglo XX investigadores japoneses identificaron al ácido glutámico como la esencia principal del gusto de su comida y éste comenzó a utilizarse como saborizante. Se llamó a este gusto característico umami (Kurihara and Kashiwayanagi 2000; Loliger 2000): Varios estudios demuestran que el umami constituye el quinto

gusto básico, además del dulce, salado, ácido y amargo (Hayashi *et al.*, 1984; Ninomiya and Funakoshi 1989). Actualmente se utiliza en muchos alimentos para realzar su sabor, pues aumenta también la percepción del dulce y el salado, y disminuye la de otros gustos como el amargo y ácido (Cagan *et al.*, 1979). En el hombre, el mayor estímulo para el sabor umami lo constituye el glutamato monosódico (MSG) (Baylis and Rolls, 1991; Brand *et al.*, 1991; Hellekant *et al.*, 1997; Macho *et al.*, 2000). Se ha postulado muy recientemente como hipótesis que el consumo cada vez mayor de MSG, utilizado como saborizante genere un efecto neurotóxico que determina déficit de GH, alteraciones hipotalámicas y obesidad (Hermanussen and Tresguerres 2003a; Hermanussen and Tresguerres, 2003b). La producción mundial de MSG se ha incrementado desde 200.000 toneladas/año en 1969 a 800.000 toneladas/año en 2001. Se considera que una persona de 70 kg que come habitualmente 100 kg/año de carne y productos derivados de la leche consume de media 10-15 g/día de GLU (varía según el tipo de dieta) (Hermanussen *et al.*, 2001a).

En general, aunque se acepta la idea de que el MSG es neurotóxico a altas dosis en animales, existe bastante desacuerdo, y queda mucho por investigar sobre el significado de esta afirmación en la salud y la nutrición en seres humanos.

El ácido L-glutámico fue evaluado por el comité conjunto FAO/WHO de expertos en aditivos alimentarios (JECFA) en 1988. Este comité JECFA consideró que este compuesto y sus sales que incluyen el MSG no tenía «especificada la cantidad aceptable de ingesta diaria» y que no suponía un riesgo adicional para la infancia. El comité científico para la alimentación de la Comisión Europea (SCF) alcanzó una evaluación similar en 1991. Una revisión posterior de las sociedades de Biología Experimental de USA (FASEB) y de la Federal Drug Administration coincidió también con las evaluaciones tanto de la JECFA como de la SCF (Walker and Lupien 2000). El MSG puede añadirse a concentraciones de hasta 10 g por kg de alimento (European Parliament and Council Directive 95/2/EC). Por ejemplo, en las patatas fritas se añaden hasta 3 g de MSG por kg (Greiff, Bahlsen-Lorenz company, personal communication, 2002), y en las salchichas de 3-6 g por kg (Kasch, Dölling company, personal communication, 2002).

Si se administra MSG en forma parenteral a ratas recién nacidas se genera una reducción muy marcada del número de cuerpos neuronales GRF-inmunorreactivos en el núcleo arcuato (Bloch *et al.*,

1984) y de las fibras GRF inmunorreactivas en la eminencia media. Los síntomas que aparecen en estas lesiones —déficit de GH, IGF-1 y voracidad— son las mismas que aparecen en la obesidad. De hecho los niveles integrados de GH plasmática de 24 horas son más bajos en sujetos jóvenes obesos que en otros delgados (Meistas *et al.*, 1982). Veldhuis *et al.* (1991) encontraron que las personas obesas tenían menos picos secretores espontáneos de GH y tanto la tasa de secreción como la frecuencia de pulsos se correlacionaba negativamente con el grado de obesidad. En el presente trabajo se evalúa la posibilidad de que el MSG administrado en forma oral sea capaz de producir trastornos similares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

El efecto de la administración oral de MSG fue investigado en 32 ratas gestantes y su descendencia hasta el día 90 de vida. Los animales fueron mantenidos bajo condiciones constantes de luz: oscuridad (12:12) y temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) y alimentadas con agua y comida (Panlab, Barcelona, Spain) «ad libitum». El estudio fue llevado a cabo de acuerdo con los principios y procedimientos recomendados por la Unión Europea para el manejo de animales de experimentación. Las madres gestantes fueron separadas en cuatro grupos (control; inyección; 2,5 g MSG y 5 g MSG), y recibieron dietas conteniendo 0; 0; 2,5 y 5 g/día de MSG respectivamente, comenzando el día 14 de gestación hasta el momento del sacrificio. Las crías del grupo inyección recibieron MSG s.c. (4 mg/g de peso corporal) en días alternos los 10 primeros días de vida. El resto de los grupos recibieron inyecciones de solución salina los mismos días. A partir del momento del destete, la descendencia recibió la misma dieta que su progenitora hasta el final del experimento. Debido a la evaluación independiente de machos y hembras, se obtuvieron un total de 8 grupos experimentales con un $n = 6-9$ por grupo. Todos los animales fueron pesados semanalmente y se controló el consumo de alimento. Al mes y a los tres meses de vida la descendencia fue sacrificada por decapitación y la sangre troncular recogida. Tras centrifugación se obtuvo plasma que fue conservado a -20°C para determinar niveles plasmáticos de GH, IGF-1 y leptina mediante

radioinmunoensayos (RIA) específicos. Asimismo los cerebros fueron fijados en paraformaldehído al 4% y guardados para el posterior análisis histomorfométrico del núcleo arcuato.

Histología

Se extrajeron los cerebros y se sumergieron durante 1 día a temperatura ambiente en paraformaldehído al 4% tamponado (pH 7.4). Posteriormente se introdujeron en una solución crioprotectora tamponada hasta el momento de su procesamiento. En los bloques de cerebro se realizaron cortes frontales del hipotálamo completo de un grosor de 50 micrometros con un Vibratomo Leica (Heidelberg, Germany), que se tiñeron posteriormente utilizando la técnica de Nissl. Se realiza el análisis morfométrico mediante una técnica estereológica para estimar el volumen relativo del núcleo arcuato (West 1993).

Radioinmunoanálisis

Los niveles plasmáticos de GH fueron determinados por RIA como se ha descrito previamente (Lima, 1993). Los reactivos fueron generosamente cedidos por el National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). El estándar de rata usado fue el GH RP2. La sensibilidad de la curva fue de 2 ng/ml y el coeficiente de variación intraensayo fue de 5,7%.

La concentración plasmática de IGF-1 fue medida con un kit comercial para rata (DSL-2900, Diagnostic Systems Laboratories, INC). La sensibilidad de la prueba fue de 20 ng/ml, y el coeficiente de variación intraanálisis fue de 6,1% respectivamente.

Los niveles plasmáticos de Leptina fueron determinados por RIA utilizando un Kit comercial (RL-83K, LINCO RESEARCH), con una sensibilidad de 0,5 ng/ml, y un coeficiente de variación intraensayo del 4,1% para valores de 3,3 ng/ml.

Análisis estadístico

Los datos se expresan como media \pm el error estándar de la media. Para determinar diferencias, se realizaron pruebas de ANO-

VA de dos vías, en los casos necesarios se realizaron pruebas estadísticas de comparaciones no pareadas (Tukey HSD para grupos no homogéneos o Student-Newman-Keuls). Se considera como límite de significación estadística el valor de $p < 0,05$. Se utilizó el paquete estadístico «Statistica» para realizar el análisis. En los casos correspondientes los datos fueron sometidos a transformaciones logarítmicas ya que presentaban una distribución logarítmica normal.

RESULTADOS

En la figura 1 se observan los resultados obtenidos del análisis del volumen relativo del núcleo arcuato a los 90 días de vida. Se observa que la administración parenteral neonatal de MSG produce una marcada disminución del tamaño de dicho núcleo, tanto en las hembras como en los machos ($p < 0,05$). Asimismo se puede observar que la administración oral de MSG, a la dosis más alta, es capaz de producir un efecto similar ($p < 0,01$), aunque dicho efecto sólo se observó en machos.

En la figura 2.a se observan los niveles plasmáticos de GH a los 30 días de vida. Como era de esperar los niveles de GH están reducidos en los animales que fueron inyectados neonatalmente con MSG ($p < 0,05$). De la misma forma se ve que los animales que recibieron el MSG por vía oral durante todo el desarrollo también presentan niveles disminuidos de esta hormona ($p < 0,01$). La figura 2.b muestra que los animales inyectados con MSG, así como los que consumieron la dieta más alta de esta sustancia mantienen niveles disminuidos de GH aún a los 3 meses de vida ($p < 0,05$). Sólo el grupo que recibió MSG en forma oral en la dosis más baja presentó una recuperación en los niveles plasmáticos. Resultados similares se observaron al analizar el efecto de MSG sobre los niveles plasmáticos de IGF-1 (Fig. 3).

Los niveles de leptina también se vieron fuertemente modificados por la administración de MSG. A los 30 días de vida los niveles de esta hormona estaban significativamente elevados en el grupo inyectado con MSG con respecto al resto de los grupos ($p < 0,01$) (Fig. 4.a). Dicho efecto se mantuvo hasta los tres meses de edad en estos animales. A diferencia del grupo inyectado, los animales alimentados con MSG presentaron una importante disminución de dicha hormona a los 90 días de vida ($p < 0,01$) (Fig. 4.b).

En la figura 5 puede observarse que los dos grupos que recibie-

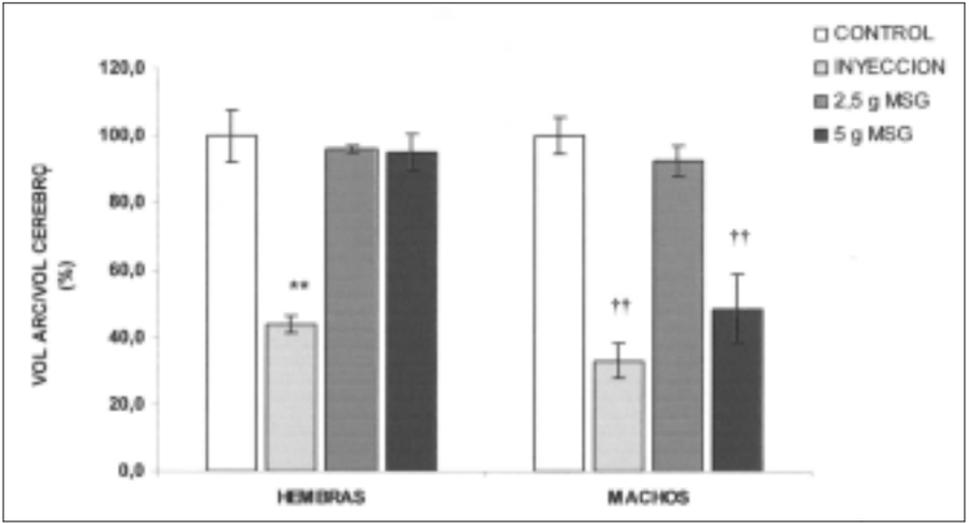


FIG. 1. Media (\pm SEM) del volumen del Núcleo Arcuato relativo al volumen del cerebro a los 90 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) (n=6-9). **p<0,05 vs el resto de los grupos; ††p<0,05 vs CONTROL + MSG 2,5 g.

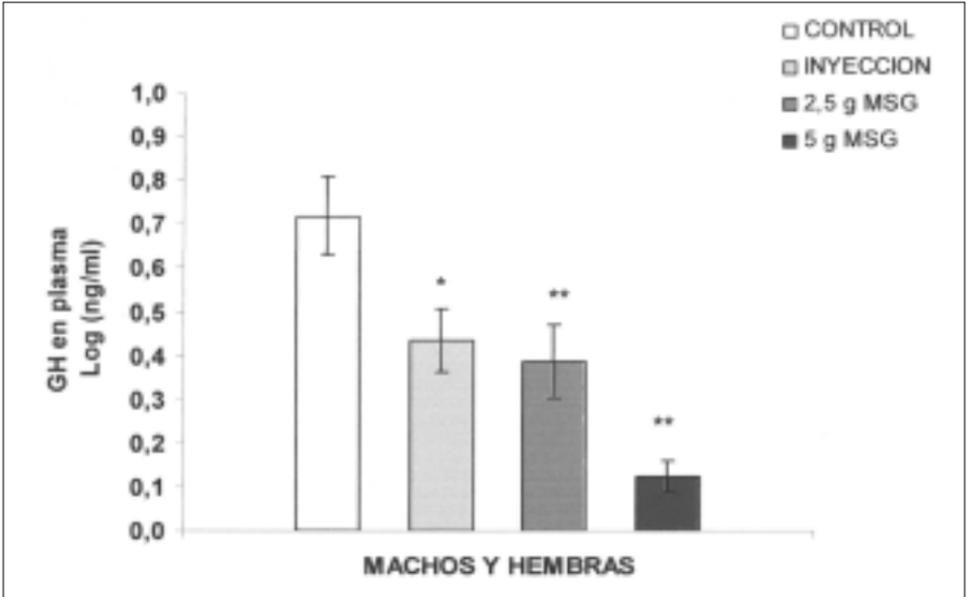


FIG. 2.a. Media (\pm SEM) de la concentración plasmática de GH a los 30 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) (n = 12-18): Cada grupo incluye datos de hembras y machos, ya que el análisis estadístico no mostró diferencias de género. * p<0,05 vs CONTROL; ** p<0,01 vs CONTROL.

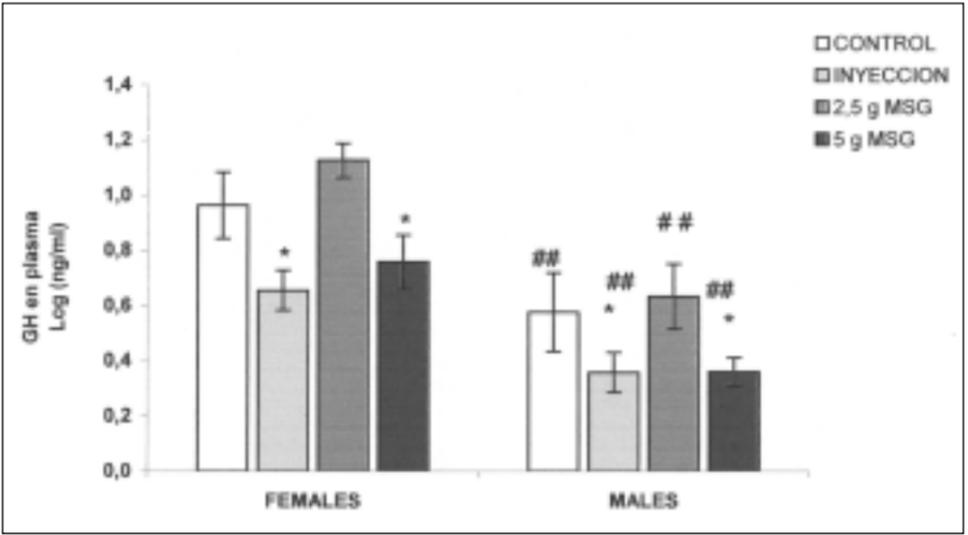


Fig. 2.b. Media (\pm SEM) de la concentración plasmática de GH a los 90 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) ($n = 6-9$). * $p < 0,05$ vs CONTROL + MSG 2,5 g; # $p < 0,01$ vs el mismo grupo de hembras.

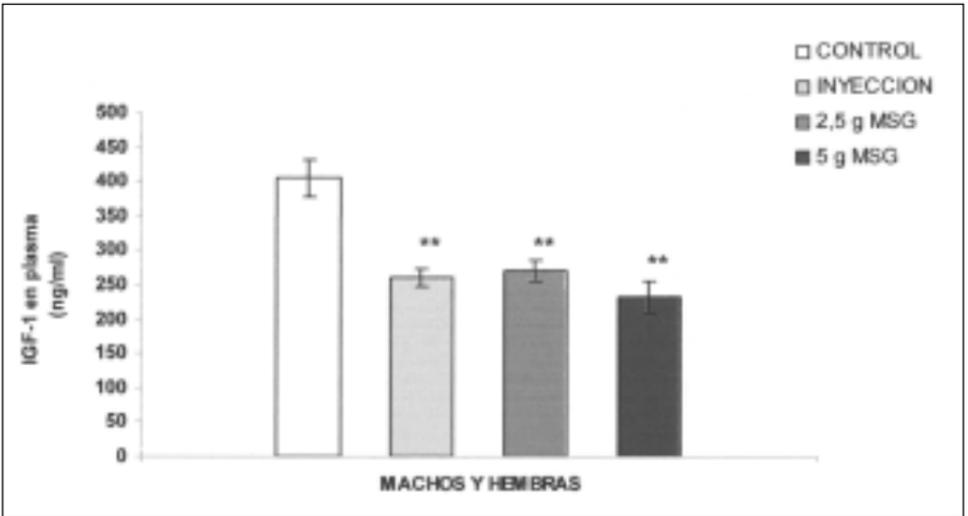


Fig. 3.a. Media (\pm SEM) de la concentración plasmática de IGF-1 a los 30 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) ($n=12-18$). Cada grupo incluye datos de hembras y machos, ya que el análisis estadístico no mostró diferencias de género. ** $p < 0,01$ vs CONTROL.

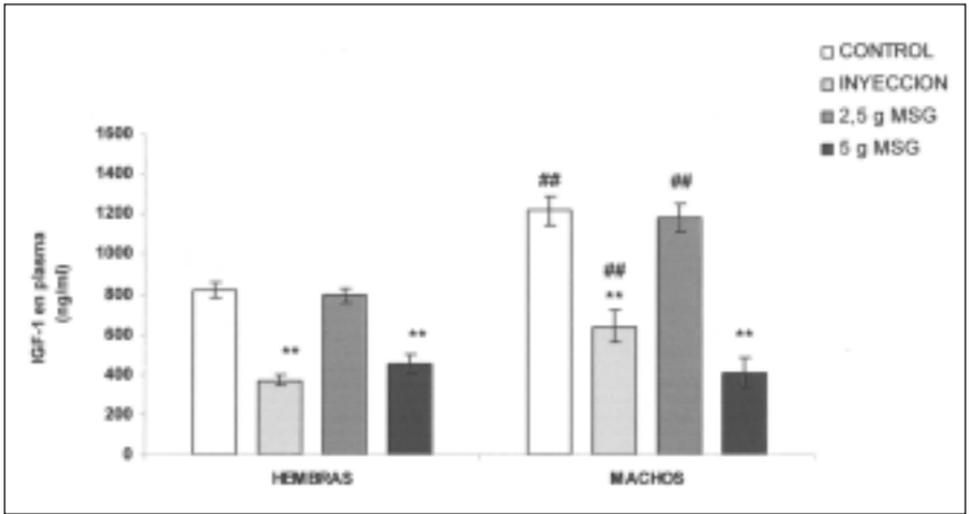


FIG. 3.B. Media (\pm SEM) de la concentración plasmática de IGF-1 a los 90 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) (n=6-9). ** p<0,01 vs CONTROL + MSG 2,5 g; ## p<0,01 vs el mismo grupo de hembras.

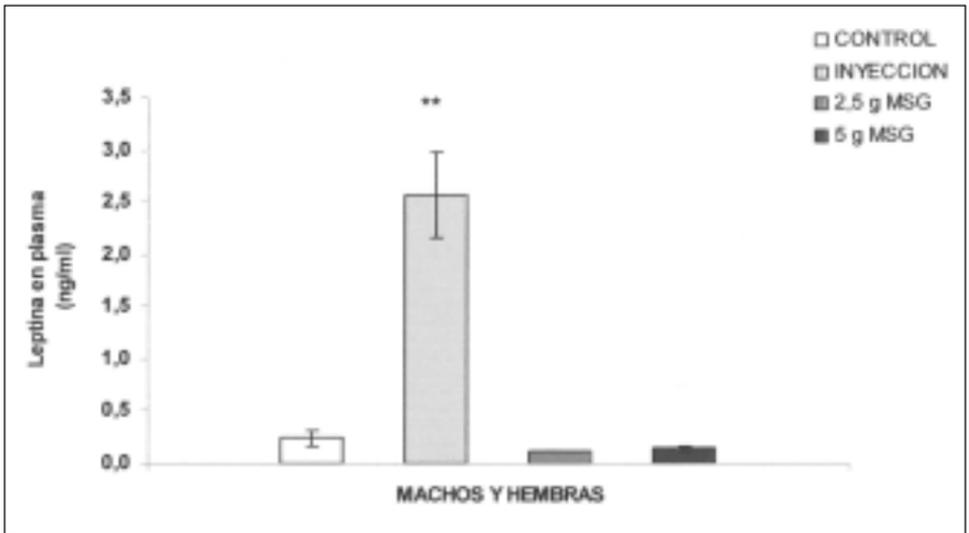


FIG. 4.a. Media (\pm SEM) de la concentración plasmática de Leptina a los 30 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) (n=12-18). Cada grupo incluye datos de hembras y machos, ya que el análisis estadístico no mostró diferencias de género. ** p<0,01 vs el resto de los grupos.

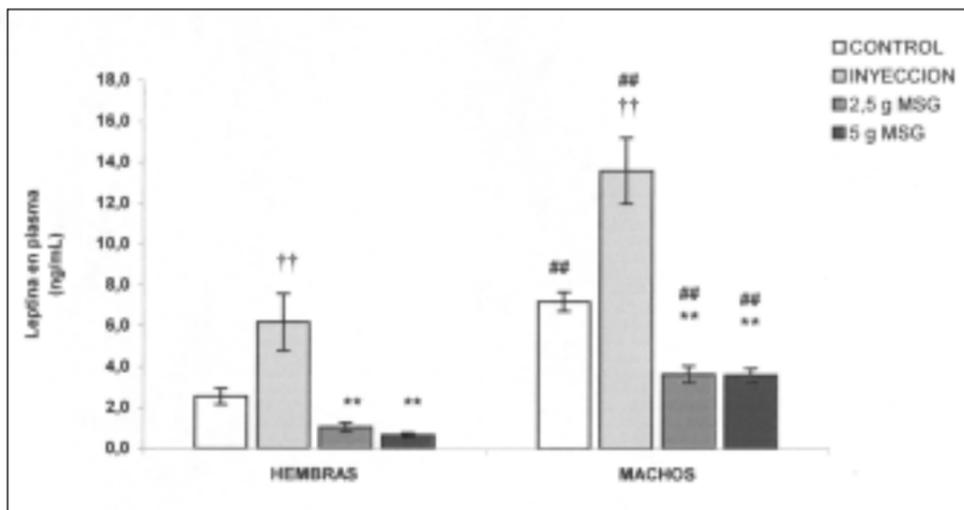


FIG. 4.b. Media (\pm SEM) de la concentración plasmática de IGF-1 a los 90 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) ($n=6-9$). ** $p<0,01$ vs CONTROL; †† $p<0,01$ vs el resto de los grupos; ## $p<0,01$ vs el mismo grupo de hembras.

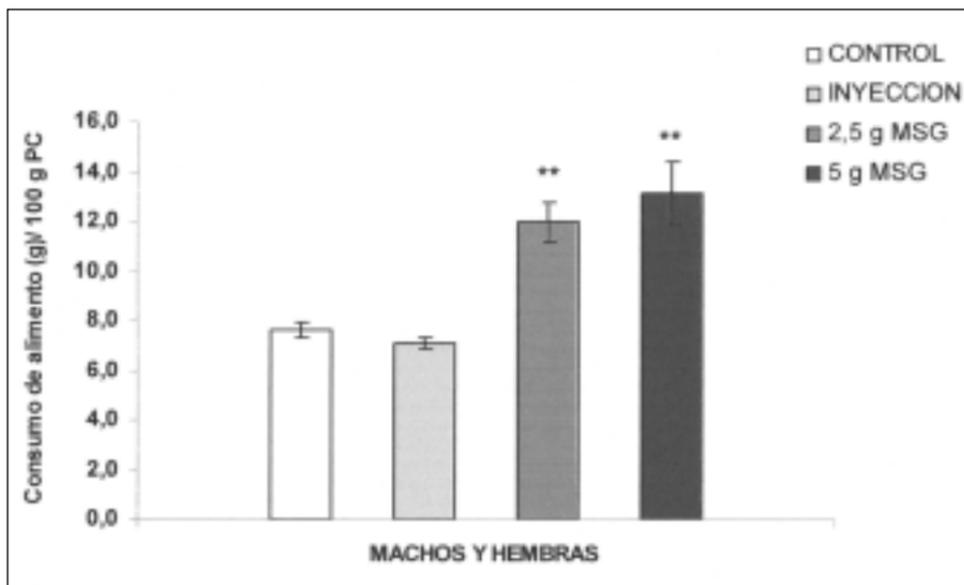


FIG. 5. Media (\pm SEM) del consumo de alimento a los 90 días de vida correspondiente a ratas normales (control), inyectadas neonatalmente con MSG (inyección) y ratas alimentadas con dietas conteniendo MSG a distintas dosis (2,5 g MSG y 5 g MSG) ($n=12-18$). Cada grupo incluye datos de hembras y machos, ya que el análisis estadístico no mostró diferencias de género. ** $p<0,01$ vs CONTROL + INYECCIÓN.

ron MSG en forma oral presentan un marcado aumento del consumo de alimento en comparación con el grupo control y el administrado con MSG en forma parenteral ($p < 0,01$).

DISCUSIÓN

La obesidad puede explicarse como una alteración en el balance energético a favor de la energía ingerida respecto de la utilizada. El control de este balance se realiza por un mecanismo de retroalimentación ejercido sobre el hipotálamo que actúa como un sensor de la energía almacenada, ajustando la ingesta y el gasto energético para conseguir el mantenimiento del peso corporal.

La administración de MSG parenteral ya había demostrado tener un efecto lesivo sobre el núcleo arcuato del hipotálamo con el resultado de disminución de la secreción de GHRH que a su vez hace disminuir la GH y la IGF1 (Rol de Lama *et al.*, 1998). Las ratas eran pequeñas pero mostraban un alto componente en tejido graso. La administración oral de MSG también ha demostrado tener un efecto similar. Los niveles de GH e IGF1 son significativamente más bajos sobre todo a los 30 días, pero sin embargo la ingesta de alimento se incrementa. Ello puede deberse a los niveles disminuidos de leptina que presentan ambos grupos experimentales que reciben MSG por vía oral. Asimismo, se ha observado una afectación evidente del núcleo arcuato, que es máxima en la administración parenteral pero que también es evidente en los grupos alimentados con dicha sustancia.

Entre los mecanismos responsables de la regulación del apetito a largo plazo, están fundamentalmente la insulina y la leptina (Barber and Cabo, 2000). La leptina se produce principalmente en el tejido adiposo y su papel principal es el de reducir la ingesta y aumentar el gasto energético. La concentración de leptina en plasma depende de la cantidad de energía almacenada y del balance energético reciente. La interrelación leptina-receptor actúa de dos maneras: inhibiendo el neuropéptido Y (NPY), a través de los receptores específicos Y5 localizados en el hipotálamo, y estimulando la melanocortina a través de los receptores (presuntamente MCR-4) localizados en cerebro (Barber and Cabo 2000). Su administración central o periférica a roedores induce un descenso agudo de la ingesta y disminución marcada de su grasa corporal (Barber and Cabo, 2000). En sujetos con déficit congénito de leptina o defectos en su

receptor se observa una marcada obesidad. Ciertos tipos de obesidad pueden ser debidos también a trastornos en las vías encargadas de la regulación de la ingesta localizadas en áreas cerebrales (Havel *et al.*, 2004).

El núcleo arcuato (NA) es un núcleo bastante heterogéneo, que está situado en las cercanías de la eminencia media y es el área central más sensible a las acciones anorexígenas de insulina y leptina pero se desconoce de qué forma la leptina es capaz de pasar de la eminencia media al NA. La porción ventral del NA contiene neuronas que sintetizan una variedad de neuropéptidos que afectan a la ingesta, incluyendo sustancias estimuladoras del apetito como el neuropéptido Y, y otras inhibidoras del mismo como la melancortina y el CART (cocaine amphetamine regulated transcript) (Havel P. *et al.*, 2004). La leptina se genera en el tejido graso, es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica mediante un sistema de transporte activo y estimula una cascada de señalización que (Jequier, 2002) disminuye los niveles de NPY —de la proteína relacionada con el gen Agouti—, de la hormona concentradora de melanina y de las orexinas, mientras incrementa la proopiomelanocortina (POMC) y el mRNA (Elmqvist, 2001) del transcrito regulado por cocaína y anfetamina— (CART). Si se produce una lesión del núcleo arcuato se altera la cascada de señalización de la leptina y, por lo tanto, se dispara el apetito. La POMC y su producto postraducciona la alfa-MSH estimulan a los receptores de melancortina (MC3R, MC4R) y, por lo tanto, disminuyen el apetito. Si se bloquean estas vías aparece la voracidad (Fan *et al.*, 1997a; Lu, X.Y., 2001).

El glutamato (GLU) es el neurotransmisor excitatorio por excelencia en el cerebro, siendo activo tal vez en un tercio de todas las sinapsis del SNC (Watkins and Evans, 1981). Una vez liberado el GLU actúa sobre varios subtipos de receptores presinápticos y postsinápticos (McGehee and Role, 1996). Existen dos grandes grupos de receptores glutamatérgicos: ionotrópicos y metabotrópicos. Entre los primeros se encuentra el receptor de N-metil.-D.aspartato (NMDA). El exceso de glutámico liberado al espacio sináptico es captado tanto por neuronas como por células de la glía y podría ser causa de neurodegeneración debido a que la hiperexcitación producida por la elevada concentración extracelular de glutamato conduce a la muerte neuronal (Garattini, 2000).

El glutamato monosódico es el primer nutriente capaz de bloquear la vía de señalización de la leptina a nivel hipotalámico, lo

que conduce a un incremento del apetito y a un déficit de GH que lleva a una estatura baja en la obesidad importante (Fan *et al.*, 1997b; Jequier, 2002). Los trastornos metabólicos asociados a la obesidad son masa muscular disminuida, un alto porcentaje de grasa corporal, hiperinsulinemia y glucemia elevada, con disminución de la tolerancia a la glucosa (Hirata *et al.*, 1997; Papa *et al.*, 1997).

La disminución de los niveles de GH e IGF 1 también contribuye a incrementar la masa grasa y a disminuir la masa magra. El eje GHRH-GH-IGF tiene también una profunda influencia en el balance energético. La administración central de GH generalmente incrementa la ingesta, mientras que la administración de IGF-1 la inhibe, y la IGF-2 no parece intervenir en la respuesta.

Con respecto a los niveles de insulina se ha comprobado que la infusión central de esta hormona reduce la ingesta y su administración por vía central, inhibe la expresión de NPY en el núcleo arcuato. Además, la insulina actúa también estimulando al SN simpático y la termogénesis. Por lo tanto, su efecto es de pérdida de peso por disminución de la ingesta, y por aumento del gasto energético. En nuestro modelo se produce una disminución de los niveles de insulina que conducirían a la situación contraria.

En conclusión, la administración oral de MSG durante las últimas etapas de la gestación a madres y después a las crías durante el período de crecimiento y desarrollo, que incluye también el desarrollo cerebral, lesiona el núcleo arcuato, disminuye los niveles de IGH, IGF 1, y leptina incrementando la voracidad, por lo que deben darse las voces de alarma para disminuir o retirar el uso de este saborizante como mínimo en la infancia.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido posible gracias a una ayuda europea EURISKED EVK1-CT-2002-00128.

BIBLIOGRAFÍA

- BARBER, T. and CABO, J.: *Modelos animales de obesidad*. 2000. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia. Ref. Type: Thesis/Dissertation.
- BLOCH, B.; N. LING, R. BENOIT, W.B. WEHRENBURG, R. GUILLEMIN, 1984: «Specific Depletion of Immunoreactive Growth.Hormon-Releasing-Factor by Monosodium Glutamate in Rat Median-Eminence». *Nature* 307: 272-273.
- CAGAN, R.H., K. TORII, and M.R. KARE, 1979: *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry*.

- CLEMENT, K.; C. VAISSE; N. LAHLOU, S. CABROL, V. PELLOUX, D. CASSUTO, M. GOURMELEN, C. DINA, J. CHAMBAZ, J.M. LACORTE, A. BASDEVANT, P. BOUGNERES, Y. LEBOUÇ, P. FROGUEL, and B. GUY-GRAND, 1998: «A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction». *Nature*, 392: 398-401.
- ELMQUIST, J. K., 2001: «Hypothalamic pathways underlying the endocrine, autonomic, and behavioral effects of leptin». *International Journal of Obesity*, 25: S78-S82.
- DE FELIPE, J.; ARELLANO, J.I.; MERCHÁN-PÉREZ, A.; GONZÁLEZ-ALBO, M.C.; WALTON, K.; LLINAS, R., 2002: «Spaceflight induces changes in the synaptic circuitry of the postnatal developing neocortex». *Cereb Cortex* 12: 883-891.
- FAN, W.; B.A. BOSTON; R.A. KESTERSON, V.J. HRUBY, and R.D. CONE, 1997b: «Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome». *Nature*, 385: 165-168.
- GARATTINI, S., 2000: «Glutamic acid, twenty years later», *Journal of Nutrition*, 130: 901S-909S.
- GARCÍA-OVEJERO, D.; TREJO, J.L.; CIRIZA, I.; WALTON, K.D.; GARCÍA-SEGURA, L.M., 2001: «Space flight affects magnocellular supraoptic neurons of young prepuberal rats: transient and permanent effects». *Brain Res.Dev.Brain Res.* 130, 191-205.
- HERMANUSSEN, M.; H. DANKER-HOPFE, and G.W. WEBER, 2001: «Body weight and the shape of the natural distribution of weight, in very large samples of German, Austrian and Norwegian conscripts». *International Journal of Obesity*, 25: 1550-1553.
- HERMANUSSEN, M; J.A.F. Tresguerres, 2003a: «Does high glutamate intake cause obesity?». *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 16: 965-968.
- HERMANUSSEN, M. and J.A.F. TRESGUERRES, 2003b: «Does the thrifty phenotype result from chronic glutamate intoxication?». *Journal of Perinatal Medicine*, 31: 489-495.
- HIRATA, A.E.; I.S. ANDRADE, P. VASKEVICIUS, and M.S. DOLNIKOFF, 1997: «Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake». *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30: 671-674.
- JEQUIER, E., 2002: «Leptin signaling, adiposity, and energy balance». *Lipids and Insulin Resistance: the Role of Fatty Acid Metabolism and Fuel Partitioning*, 967: 379-388.
- KRUDE, H.; H. BIBERMANN, W. LUCK, R. HORN, G. BRABANT, A. GRUTERS, 1998: «Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans». *Nature Genetics* 19: 155-157.
- LIMA, L.; ARCE, V.; TRESGUERRES, J.A.F.; DEVESA, J.: «Clonidine potentiates the GH response to GHRH in norepinephrine synthesis inhibited rats: evidence for an alpha2 adrenergic control of hypothalamic release of somatostatin». *Neuroendocrinology* 1993; 57: 1155-1166.
- LOLIGER, J., 2000: «Function and importance of glutamate for savory foods». *Journal of Nutrition*, 130: 915S-920S.
- LU, X.Y., 2001: «Role of central melanocortin signaling in eating disorders». *Psychopharmacol Bull.* 35: 45-65.
- MACHO, L.; M. FICKOVA, D. JEZOVA, and S. ZORAD, 2000: «Late effects of post-natal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats». *Physiological Research*, 49: S79-S85.

- MCGEHEE, D.S.; L.W. ROLE, 1996: «Presynaptic ionotropic receptors». *Current Opinion in Neurobiology*, 6: 342-349.
- MCLELLAN, F., 2002: «Obesity rising to alarming levels around the world». *Lancet*, 359: 1412.
- MEISTAS; M.T.; G.V. FOSTER, S. MARGOLIS, A.A. KOWARSKI, 1982: «Integrated Concentrations of Growth-Hormone, Insulin, C-Peptide and Prolactin in Human Obesity». *Metabolism-Clinical and Experimental*, 31: 1224-1228.
- OLNEY, J.W.; L.G. SHARPE, 1969: «Brain Lesions in An Infant Rhesus Monkey Treated with Monosodium Glutamate». *Science*, 166: 386-8.
- ROBINSON, T.N., 2001: «Television viewing and childhood obesity». *Pediatric Clinics of North America*, 48: 1017.
- ROL DE LAMA, M.A.; PÉREZ ROMERO, A.; ARIZNAVARRETA, C.; HERMANUSSEN, M.; TRESGUERRES, J.A.F., 1998: «Periodic growth in rats», *Ann. Human Biol.*, 25: 441-451.
- STROBBEL, A.; T. ISSAD, L. CAMOIN, M. OZATA, and A.D. STROSBURG, 1998: «A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity». *Nature Genetics*, 18: 213-215.
- VOTRUBA, S.B.; M.A. HORVITZ, D.A. SCHOELLER, 2000: «The role of exercise in the treatment of obesity». *Nutrition*, 16: 179.
- WALKER, R.; J.R. LUPIEN, 2000: «The safety evaluation of monosodium glutamate». *J. Nutrition*, 130: 1049S-1052S.
- WEST, M.J.; SLOMIANKA, L.; GUNDERSEN, H.J., 1991: «Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator». *Anat Rec* 231: 482-497.
- WATKINS, J.C. and R.H. EVANS, 1981: «Excitatory Amino-Acid Transmitters». *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 21: 165-204.
- WEST, M.J., 1993: «New stereological Methods for Counting Neurons». *Neurobiology of Aging*, 14: 275-285.
- ZHANG, Y.Y.; R. PROENCA, M. MAFFEI, M. BARONE, L. LEOPOLD, and J.M. FRIEDMAN, 1994: «Positional Cloning of the Mouse Obese Gene and Its Human Homolog». *Nature*, 372: 425-432.

INTERVENCIONES

Prof. Blázquez Fernández

Enhorabuena por esta excelente conferencia y por lo importante que es tratar la obesidad en estos momentos, ya que realmente en el siglo XXI se considera que en los países desarrollados la epidemia es una obesidad, con las complicaciones cardiovasculares que trae consigo, la diabetes tipo II, que es un gran pedisponente a la gran prevalencia de esta entidad morfológica, hasta el punto de que está cambiando nuestro concepto de la diabetes tipo II que antes era sólo de adultos y ahora empieza a ser de niños y adolescentes. Sin duda hay un fundamento a esto, en cuanto a que ingerimos muchas calorías y no las gastamos, hasta el punto de que el hombre pre-

histórico se hubiera sorprendido de que los grandes problemas del siglo XXI son comer mucho y trabajar poco.

Evidentemente, la hipótesis que usted ha presentado con los datos experimentales firmes, me parece muy atractiva y muy sugerente. Como consecuencia de ello, esto trae consigo una serie de preguntas, por ejemplo, ¿en estos animales está aumentada la apoptosis, y concretamente de esas zonas, el núcleo acuatado, o de aquellos núcleos, ventromedial o el lateral donde evidentemente está el control de la ingesta, tanto para la toma de alimentos como para la saciedad?

Otro punto es que en esa zona parece que molecularmente, a los que estamos trabajando en ello, hay unos sensores de glucosa que son unos diseños moleculares donde está constituido por la glucoquinasa. Esto tiene su interés porque esta enzima fosforilante de la glucosa sólo actúa cuando está muy elevada la glucemia, es decir, cuando uno come, precisamente por la baja afinidad que tiene con la glucosa. La pregunta es que precisamente en el núcleo arcuado está muy elevada la presencia de la glucoquinasa y también de la isoforma del transportador de glucosa glut 2, que también tiene la misma cuestión, sólo a altas km y con baja afinidad por la glucosa. La cuestión es si evidentemente en estas etapas tienen algún papel estos sensores de glucosa junto a los circuitos neuronales que tienen péptidos orexígenos y anorexígenos.

Prof. Fernández de Molina

Felicitar al Prof. Tresguerres por esta interesantísima conferencia que nos ha dado. Yo quería hacer un comentario en el sentido de que en el hipotálamo tenemos dos zonas, una es el núcleo ventromedial y sabemos que cuando se lesiona se produce en el animal una obesidad enorme y cuando se lesiona el hipotálamo lateral es una delgadez casi caquética. Quiero comentar algo importante, el neurotransmisor glutamato está muy extendido en todo el cerebro, sobre todo en la corteza cerebral, y mi pregunta es la siguiente. La corteza cerebral es el sitio en donde se recoge toda la información sensorial para ser procesada en áreas sucesivamente de mayor complejidad y para pasar de un lado al hipocampo (procesos de memoria), y por otro a la amígdala donde tiene lugar la integración sensorioafectiva, asociando la información sensorial

más compleja con la información de los sistemas de valor (recompensa y aversión). La distorsión del sistema neurotransmisor glutamato-receptor en corteza cerebral podría alterar en gran medida el proceso de evaluación emocional de la información sensorial y muy probablemente el proceso de consolidación de la memoria.

Prof. Clavero Núñez

Quiero darte la enhorabuena porque creo que es un tema interesantísimo. Voy a hacerle una pregunta que es importante para mí, ¿habéis observado si estas ratas tienen alguna alteración en el comportamiento sexual? Digo esto porque he visto que en las hembras tienen un retraso en la apertura de la vagina, los machos atrofia testicular, y todo esto hace probable que las tasas hormonales de estas ratas recién nacidas, e incluso en el útero de su madre, no sean las aceptables a las correctas para fijar bien el sexo cerebral, pues creo que en las ratas se fija cuando han nacido ya. Entonces es posible que estas ratas tengan un comportamiento sexual distinto, y eso podría extrapolarse.

Prof. Portera Sánchez

Me uno a las felicitaciones y quiero hacerte una pregunta personal. En los últimos meses he observado que estás adelgazando, ¿estás tomando memantina?

Prof. Sánchez García

Quiero felicitar al Prof. Tresguerres por esta magnífica charla. Quiero hacerle dos preguntas. La primera, ¿se ha establecido alguna relación en el consumo general de glutamato monosódico en España, Italia y Grecia comparado con el resto de los países que tienen menos obesidad? Esto sería una cuestión de salud pública fácil de hacer. Respecto a la memantina, ésta es un medicamento que se utiliza para el Alzheimer, y éste sigue igual; ha estado en los cajones de las empresas farmacéuticas durante muchos años y se ha sacado para dar a los enfermos de Alzheimer algo, porque algo hay que darles.

La pregunta es ¿los enfermos de alzheimer que están tomando memantina y otras cosas, cómo están de peso?; observándolo bien porque hay muchísimos, tendrían un experimento natural sencillamente tomando los datos.

Prof. Nogales Espert

Quiero felicitar al Prof. Tresguerres porque nos ha presentado unos trabajos espectaculares, preciosos, y que probablemente son un inicio de un abordaje muy propio y singular de la epidemia de obesidad que nos invade. Yo sólo quiero hacer una observación, en el trabajo de las ratas de alimentación hay periodo de lactancia materna exclusiva de la rata. La leche de madre protege frente a la obesidad; por tanto habría que pensar, primero, tener la seguridad de que el glutamato se elimina por la leche, y en segundo lugar, ver si además de eliminarse por la leche, se eliminara también algún factor que justamente bloqueara los receptores o lo que fuese. En cualquier caso, tener en cuenta esa posibilidad, que algo puede pasar en la leche que cuando se valora ese periodo hay que valorarlo de una forma singular.

Prof. Casado de Frías

Yo quisiera, lo primero, felicitarte y darte las gracias porque me parece que has presentado una comunicación llena de sugerencias. Enormemente provocativa y para mí inquietante en muchos aspectos, porque realmente si me convencen muchas de las cosas que has dicho. El otro día hablaba yo de los disruptores endocrinos y éste sería uno más. A mí las inquietudes se me producen a la vista de algunas de las imágenes que he visto. Me choca, por ejemplo, que entre los reclutas alemanes tengan los obesos tallas más cortas, porque desde el punto de vista de un pediatra la situación habitual es la contraria. Los niños que tienen una obesidad exógena característicamente son más altos que la población media, crecen más, y esto es un hecho constatable.

Yo no estoy muy seguro; quizás el Prof. Tresguerres lo sepa, ¿el bovril era glutamato? El bovril es un producto que todos ustedes lo han conocido, que se utilizaba para aumentar el sabor de las comi-

das y de las salsas y durante mucho tiempo se ha utilizado como estimulante del crecimiento y así se decía; yo no lo suscribo, y desde luego lo que se recomendaba en algunas ocasiones es que para propiciar la secreción de la hormona del crecimiento cuando se hacen determinaciones en un individuo en el que se tiene dudas si hay una deficiente secreción de la hormona indicada, se utilizan estimulantes diversos, entre otras cosas el glutamato. No sé si en una sola dosis sirve y a lo mejor es distinto el comportamiento cuando se hace de una forma seriada, como ha sido la experiencia del Prof. Tresguerres.

CONTESTACIÓN DEL PROF. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES

Quiero ante todo agradecer a todos los intervinientes sus palabras y paso a contestarles por orden de intervención:

Al Prof. Blázquez

Efectivamente, y tal y como comenta, existe un aumento de la apoptosis del núcleo arcuato, que es donde está localizado el centro regulador del apetito. En los animales inyectados con MSG la destrucción de dicho núcleo es casi completa, mientras que solamente existe una afectación parcial de los que la han ingerido por vía oral.

No sé exactamente qué papel puede jugar la glucoquinasa ni tampoco el glut2 en la modificación del apetito que se observa en los animales tratados. Supongo que deben tener algo que ver porque se encuentran incrementados los niveles de insulina.

Al Prof. Fernández de Molina

Teniendo en cuenta que en la corteza cerebral existen numerosas sinapsis glutamatérgicas no sería de extrañar que pudieran existir alteraciones en el proceso de consolidación de la memoria. Sin embargo, no hemos realizado ningún experimento que nos permita dar aquí ahora datos sobre ello.

Al Prof. Clavero

Existe una afectación del eje reproductor en los animales sometidos a tratamiento con MSG, pero no sé hasta qué punto ello podría influir en el proceso de diferenciación sexual cerebral. La disminución de niveles de hormonas sexuales y las alteraciones en los parámetros reproductivos hacen pensar que podría ser posible. De nuevo nos faltan datos para poder dar una contestación suficientemente justificada.

Al Prof. Portera

Sí, he estado tomando Memantina.

Al Prof. Sánchez

Tampoco sé si existen datos sobre el comportamiento alimentario de los enfermos de alzheimer tratados con este fármaco.

Al Prof. Nogales

Tendríamos que realizar medidas de glutamato en la leche materna para comprobar su eliminación por esta vía. En el caso que así fuese tendríamos que ver también qué elementos de la leche podrían estar protegiendo al recién nacido.

Al Prof. Casado

El tema de la obesidad y la talla corta, efectivamente, tiene varias lecturas. En la especie humana obesidades asociadas a retrasos constitucionales del desarrollo pueden estar ligadas a aumentos de talla pero en algunos casos, sobre todo de obesidades extremas, puede existir una combinación con déficit de GH que podría explicar el retraso estatural unido al elevado peso.

**LA IDEA ES MÁS IMPORTANTE QUE
EL EXPERIMENTO**

***THE IDEA IS MORE IMPORTANT THAN
THE EXPERIMENT***

Por el Dr. JOHN MARTIN (*)

Miembro de la Academia Británica de Medicina

Resumen

La ciencia experimental necesita tanto ideas como una metodología técnica rigurosa. La ciencia moderna tiene la capacidad de medir con facilidad y con precisión. Existe el peligro que esta facilidad conduzca a la proliferación de experimentos que se llevan a cabo por la posibilidad de medir cosas pero sin que estén dirigidos por una idea original.

Se propone que la idea creativa como mejor se produce es en una atmósfera de libertad que permita descifrar la sabiduría del pasado. Los equipos multidisciplinarios y con cruce de culturas son los que producen las mejores ideas.

La ciencia debe reanalizar la importancia de la calidad de las ideas y las condiciones de la sociedad para producirlas.

Abstract

Experimental science needs both idea and rigorous technical methodology. Modern science has the ability to measure with great ease and accuracy. There is a danger that this facility leads to the proliferation of experiments that are performed for the sake of measurement and not driven by idea.

(*) I am a British Heart Foundation Professor of Cardiovascular Science. The analogy comparing acute coronary syndromes to anaemia arose in conversation with Prof Attilo Masari.

It is proposed that creative idea is best produced in an atmosphere of freedom to challenge the wisdom of the past. Teams that are multidisciplinary and cross cultures may produce the best ideas.

Science should reanalyse the importance of quality of idea in science and the conditions in society that produce it.

*New York is one great minimalist abstraction
An Immense beauty created by
Either horizontal or perpendicular lines.
But how could man
Who is round and soft
Create such rigid linearity
Unless within himself there is
A minimalist abstraction?*

Some would say that the proposition the idea is more important than the experiment is so obvious it is not worth discussing, others have vehemently disagreed with it. I think it is useful in several ways to analyse the relative value of the two most important events of research. I believe the weight put on an idea or experiment will affect the way science is managed, particularly, the way in which an atmosphere of creativity is generated. An experiment without an idea has little value—it lacks direction. Science has an ability to perform an almost indefinite number of experiments; time, money, and energy can be invested to little purpose. An idea is universal and transcending; an experiment, although reproducible, is limited to those conditions which make it reproducible.

The purpose of science, and especially medical science, is to change the world. Let us therefore take the concept to extremes to test its validity. It is clear that an idea alone without experiment can change the world in a way that has practical consequences, resulting from the idea itself without any experimental science intervening. If I look at a stirrup, I can see that this is a product of a single idea. A horseman somewhere in central Asia thought that to put a ring on the end of a rope would help him stay on the horse. No experimentation was necessary. Observe the outriggers on a canoe, again these were not the result of painstaking experiments, but they were a single intellectual leap, the product of an internal vision which gave the solution to capsizing a canoe with a sail. The most obvious manifestation of this concept in medical science is Jenner's idea of vaccination. This

was arguably the greatest medical advance ever, which has prevented more human suffering than any other medical advance. Jenner applied his idea directly by vaccinating his neighbour's child.

Is what I am saying obvious? There has been much serious and even violent discussion about the relation between idea and experiment, in decisions about Nobel prizes. However, the Nobel prize committee in medicine and physiology itself practises the concept the idea is more important than experiment. For example, Salk did the experiments that showed vaccination against poliomyelitis to be efficacious. He was also involved in its worldwide development, and is now a household name. However, the Nobel prize for vaccination against poliomyelitis was given to the biologist who had the idea that poliomyelitis virus could be grown in tissue culture. His name is forgotten, but his novel idea was the *sine qua non* for Salk's later more practical work.

An idea comes from the mind, it is the essence of man. Even though the difference in DNA between a chimpanzee and a human being is negligible, the qualitative difference is the human ability to create abstract concepts, an ability which is central to humanity and of which there is no evidence in other primates. Thomas Aquinas summed it up: «the essence of the human being is to take two concepts which are themselves abstract, then to put them together to form a new abstract concept which is unlike the two original concepts». He maintains that if this is done within the human being there must be an abstract machine to do it.

Is this ability to abstract, a product of a highly developed neural network, or the product of a machine that is not physical, and that does not require atoms to fulfil its role (but clearly would need a biochemical connection to manifest itself)? If an abstract machine exists, I do not think that it was necessarily produced from a source outside man himself. Could it not have been a product of evolution? The best explanation for the origin of the universe is that it came from a singularity of infinite density and no volume. This concept is utterly incomprehensible if not understood as the product of a mathematical derivation. However, if that concept is credible then it is no less credible to say that a non-physical principle within the human being arose as a product of evolution in order to explain Aquinas' philosophical explanation for our ability to abstract, just as Stephen Hawking's mathematical extrapolation helps understand the origin of the universe.

Perhaps the great problem of the next 100 years in biology will be to understand what makes a human being a human being. Most of my colleagues in neurobiology would not agree with what has just been said, but would maintain that man's ability to have ideas comes from his highly complex neural network. The consequences of either believing one proposition or the other are profound, legally, socially, politically, and morally. The solution to the problem of «what is a human being» can only come from an interaction between science, philosophy, and sociology. Surely we need to understand what is the nature of man before we can plan his appropriate society. The way man changes the world and creates society is based upon his ability to abstract. This was the subject of a poem I wrote about New York.

If fantasy is a play of ideas, then I find the expression of fantasy in abstract painting and music superior to science for two reasons. First, art is a tool for the self analysis of the individual, both the producer and the consumer. An understanding of self is a higher pursuit than the remit of science which is to measure the universe and predict its behaviour. Second, art is unique. If a poem is not written or a painting not painted, no other human being in the future will ever write the same poem or paint the same picture. However if the scientist were to die the day before his great discovery it would only be a transient loss; the discovery is sure to be made within the next few years.

Scientific concepts are put together often most fruitfully in a non-linear fantasy, which is both spontaneous and intuitive. Such fantasy will often give rise to experiments which are risky, and certainly are not likely to attract funding. However, I believe that such experiments are to be encouraged. The environment in which a play of ideas can occur, that leads to this non-linear fantasy, can be aided by having a multidisciplinary team in a relaxed environment, where intellectual creativity is valued at least as much as the discipline of experimentation. I would like to give a few examples of how fantasy has helped experimentation.

In the late 1980s and early 1990s, I was associated with the translation of basic discoveries of the role of nitric oxide in biology into the clinical field. Nitric oxide is known to be an important signalling system throughout biology.

We showed that the inducible form of nitric oxide synthase was found in the myocardium of patients suffering from dilated cardiomy-

opathy. This result published in *The Lancet* lent support to the hypothesis that overproduction of nitric oxide might hold the heart in dilatation, inhibiting cardiac contraction. This finding was an important advance in the understanding of the disease, which I reported at a meeting of the European Society of Cardiology in Barcelona. Before my presentation, I spent time wandering through the gothic quarter of the city. One of my favourite secluded squares contains the church of St Philip Neri. His statue, which stands above the door, shows the saint performing an auto-thoracotomy, his hands holding his ribs apart to show flames of love leaping from his dilated heart. Above is a quotation in Latin from the Pslams: «Oh Lord dilate my heart with love for thee». A problem in Catholic theology has been the nature of grace. Grace is that which God gives to man to help him live a worthy life. It is the essence of the love of God. At the meeting the following day in Barcelona, I was able to report not only that nitric oxide might be involved in dilated cardiomyopathy, but that if St Philip Neri was asking God to dilate his heart with love for him, then perhaps grace is nitric oxide.

A multidisciplinary team is more likely to give rise to non-linear fantasy than a monovalent team. My young colleagues and I were relaxing one evening and discussing our findings on dilated cardiomyopathy. One gynaecologist among us suggested that the uterus was very much like the heart; their function was to contract, the uterus rarely and the heart 72 times a minute. We wondered whether nitric oxide delivered to the uterus might not inhibit its contraction just as it inhibits the contraction of the myocardium. We discussed that premature labour was a common cause of infant mortality and disability, and there was no convincing treatment that might inhibit the unwanted contraction of the uterus in early pregnancy. We wondered whether nitrate patches used in the treatment of angina could inhibit premature labour. The young gynaecologist pleaded to be allowed to use nitrate patches, with the permission of his consultant in obstetrics, in extreme circumstances. I told him that he must be focused and disciplined and that he should finish his present project on the uterine pharmacology of nitric oxide before going into clinical studies. I went home and to bed. I was woken in the early hours by the young gynaecologist telephoning to exclaim «I've done it and it works!». After our discussion he had returned to the labour ward where he was on duty for the night, where a young Ethiopian woman was in labour with twins at 22 weeks of

pregnancy. He discussed the matter with his consultant, who agreed it was reasonable to try the nitrate patches in these extreme circumstances because of their low risk and the potential benefit. The young gynaecologist sprinted to the coronary care unit, returning to the obstetric ward with the necessary patches. Just as patients with angina have those patches over their heart (although the delivery is of course via the bloodstream) the patches were placed over the pregnant abdomen. Within half an hour the contractions had ceased. The efficacy of nitrates in inhibiting premature labour has been shown by a controlled clinical trial undertaken by the young gynaecologist. Admiral Fisher at the battle of Jutland said "Any fool can obey orders, in war the important thing is not to obey them". Perhaps the same applies in science.

The flow of ideas to give a non-linear fantasy may be something that arises out of European culture. Might not the US culture support a more linear direction of ideas? Vascular endothelial growth factor (VEGF) is important in the fetus for the growth of blood vessels. This finding has led to its potential use in inducing new blood vessel growth in ischaemic tissue, or in inhibiting angiogenesis in tumours. Our group looked at the problem differently. We had originally suggested that atherosclerosis might have its origin at the adventitial side of the blood vessel, not only at the luminal side as thought previously. We had therefore approached vascular biology from an obtuse angle, which led us to suggest that ischaemia of the outer media of an artery, caused by occlusion of the vasa vasorum, might be responsible for changes leading to intimal hyperplasia. Thus, we suggested that the gene for VEGF which causes angiogenesis in the fetus might have a quite different second role in the adult artery. Again thinking from the outside in, we were able to transfect the gene for VEGF to rabbit arteries, showing that acting via its receptors uniquely found on the endothelium, presence of the gene product caused production of nitric oxide and prostacyclin from the endothelium lining the artery, which in turn inhibited intimal hyperplasia occurring in response to a variety of damaging agents. These ideas and experiments led to the concept that the delivery of the gene for VEGF from the outside of vessels might be used clinically, to inhibit intimal hyperplasia which occurs at anastomoses after vascular surgery. This new treatment is at the moment in phase one clinical trials. Our US colleagues are exploiting VEGF gene treatment to encourage angiogenesis in ischaemic tissue.

To make clinical advances for such discoveries, it was necessary to establish a biotechnology company. Large pharmaceutical companies would not take the risk, and there was no mechanism within the grant-giving agencies to supply the large amount of money needed. Should a professor found a biotechnology company? This notion has been the subject of much debate in UCL (University College London). However, I believe that professors should not only be allowed to form biotechnology companies, but they should also be encouraged to do so. Universities own a large amount of intellectual property, which is very valuable. Up to now, intellectual property has been given to the world in the form of publications or ideas given freely to industry. The formation of biotechnology companies that are in part owned by the university will allow the possibility of income to the university from those companies in the future. Such income could not only fund scientific research within the university, but also fund departments in humanities. Perhaps science departments have a duty to fund poorer departments, in which fundraising is difficult. This model is being tested here at UCL, and has every chance of being successful. This system might not only bring funding to departments that are in difficulty, but it might also give the university the possibility of being relatively independent from government. If the academic who founds the biotechnological company is not involved in its early development, then no development will occur. However, the following rules might help: the objective of the academic must be science and not profit; there must be a defined benefit to the university; and there must be transparency about the involvement of the academic's time and resources. During the process of setting up our company (Eurogene), I have learnt much about the commercial world. I have also learned how academia is seen by that world. I have seen the enormous weakness of the banking industry in understanding science and its potential. I am sure that they also see the weaknesses of academia. What is needed is a meeting of academia and investors so that each side can know the other on equal terms, and each side can attain its objective without losing its integrity. The possibility of financial independence for the university and the support of the arts in university by science depends upon that relation.

One of my greatest passions in life has been the study of platelets. They are biologically unique in that they have no nucleus and are produced from megakaryocytes by an unknown process which

is not mitosis. Each megakaryocyte produces between 2000—3000 platelets. The understanding of this process is difficult since there is no biological precedent.

Platelet changes may be one cause of acute coronary syndromes (myocardial infarction and unstable angina). I have no clear fantasy about what happens in the coronary artery in the minute before chest pain, but only a blurred conjunction of possibilities. Acute coronary syndromes are simply syndromes made up of a specific clinical description, electrical changes on the electrocardiogram, and enzyme changes in the blood. At the moment, we treat the syndrome in exactly the same way irrespective of what might be the pathophysiological cause of occlusion of the coronary artery. We are in fact at the same stage of therapeutic development as medicine was, when anaemia was treated only by transfusion of blood, without the understanding that there were several diseases which lead to the endpoint drop in haemoglobin, each one having to be treated individually. We now have specific treatments for iron deficiency, vitamin B12 deficiency, and bone marrow failure. If we can define pathophysiologically all the diseases that lead to the syndromes of unstable angina and myocardial infarction, then we will be able to design specific treatments as we have done for anaemia. What is lacking in this quest is not our technical ability to do biological experiments on the cells involved in the blood in the coronary artery, but it is a lack of ideas that holds us back.

One of the biggest leaps in non-linear fantasy that I have been involved in is platelet production. The original observation that platelets are produced from bone marrow megakaryocytes arose from a single study by Wright in 1908. That study has been handed down in the folklore of medicine as definitive. However, there is now good evidence that megakaryocytes mature in the bone marrow and then circulate in the venous circulation. The idea arose that perhaps all platelet production occurred in the lungs. Circulating megakaryocytes would be ejected from the right ventricle with great kinetic energy because of their large size, and they would impact into the capillaries of the lungs. Because of their enormous size they could not pass through the pulmonary circulation. The megakaryocytes would be changed by a physical process of fragmentation to produce platelets, which would leave the lungs via the pulmonary vein in a process driven by the kinetic energy of the right ventricle. Since the hypothesis was first proposed, there has

been much circumstantial evidence supporting it, however, it proved impossible to design a definitive experiment. With these thoughts in my mind, I was sitting in a bar in Elsenor in Denmark with among others, John Dickinson, Professor of Medicine from Barts (St Bartholomew's, University of London). He had a fascination with digital clubbing.

When he asked me what the cause of clubbing might be, I immediately saw the possibility that if there were abnormal circulation between the pulmonary artery and the pulmonary vein, or from the right heart to the left heart, then megakaryocytes might bypass the lungs without being fragmented. Such abnormal circulation might happen around tumours, during the inflammatory process of septic-lung disease or in a right to left cardiac shunt. Megakaryocytes being extremely large cells would then travel in the axial flow at the centre of the artery, being carried along the brachial artery to the final capillary bed in the fingers, where they would fragment as though they were in the lungs. The lungs have high levels of nitric oxide and prostacyclin that would prevent secretion of megakaryocyte contents. However, in the fingers large amounts of platelet derived growth factor (PDGF) might be released from the megakaryocytes a-granules. The action of PDGF could produce all the signs of clubbing. Delighted with our new idea, there and then we started writing our hypothesis article which later appeared in *The Lancet*. There was both applause and criticism from my colleagues, applause because of the intellectual advance of fantasy and criticism because of no experimental evidence. The article provoked much correspondence, but little more. However, 2 years later pathologists from Oxford did an observational study, whereby they examined the capillaries in the ends of the fingers of patients with lung disease with clubbing and lung disease without clubbing. They showed that digital capillaries or arterioles from patients with clubbing contained megakaryocyte material, whereas the controls did not.

Is it possible to create a favourable atmosphere in which fantasy might flourish? I believe that the role of the professor as a leader is not only to give intellectual direction to a group, but also to create such an environment. The atmosphere should be one in which even the most junior members of an academic team can express themselves without fear. It should be open, democratic, and relaxed. If the professor supports work financially and to some extent intellectually, and encourages his more junior colleagues to

publish without his name on the paper, then this gives them confidence to express themselves as they wish, hopefully in exciting new directions.

It is difficult to achieve the degree of personal honesty to understand why academics put so much of their lives into research. It is certainly not for money, and fame is ignoble motivation. While reading *Churchill's History of the English Speaking People*, I was struck by his description of Richard the Lionheart. «He loved war not for political gain or glory but as other men love either science or poetry: for the excitement of the struggle and the glow of victory». I think that sums it up for me, I do research for the excitement of the struggle and the glow of victory.

INTERVENCIONES

Prof. Rey Calero

Quiero agradecer al Dr John Martin su bien trabada comunicación sobre Ideas y Experimentos. Hace un momento el Prof. Tresguerres en su magnífica exposición hacia clara interpretación de cómo una idea sugiere una hipótesis, que se necesita comprobar experimentalmente, para obtener unos resultados científicos. La ciencia es el «*cognitio rerum per causas*», es decir, que cuando conocemos las causas que provocan los hechos, es cuando hacemos ciencia.

Empieza desarrollando: *Hypothesis, Experiment, Development*. Es la síntesis de lo que Sir F. Bacon, en el «*Novum Organum*», requiere para el desarrollo de la ciencias positivas: *La Observación, la Hipótesis, la Comprobación experimental de la Hipótesis, y la Tesis*. Por tanto, si de la Observación surge la Idea que establece la Hipótesis para validarla, hay que comprobarla con el experimento. Decía Claude Bernard que para descubrir los secretos de la naturaleza se necesita «el fuego y el hierro del experimento, más que el curso de las operaciones ordinarias».

Cuando nos comenta cómo Jenner hace el primer experimento de vacunar a un niño, parte de la observación admitida por los campesinos, de los que habían padecido las pústulas de la vaca no adquirirían la viruela. En medio de la epidemia de ésta toma de las manos de Sara Nelmes las pústulas, se las inoculara a Jame Phips y cuando le prenden, le inoculara el material varioloso de un enfermo.

Había quedado protegido. El experimento confirmaba la Hipótesis, admitida ya como Tesis.

Nos comentaba también la concepción tomista de la Idea. En realidad, la doctrina aristotélica-tomista de la escolástica, establece a la Idea «*como representación mental del objeto*», desde el punto de vista de la lógica, y como causa ejemplar de la visión *ontológica*. Frente al empirismo que defiende sólo la experiencia. Para Kant son conceptos puros de la razón práctica. Nos advierte cómo la observación nos manifiesta apariencias, fenomenológicas, hay que profundizar en la realidad en sí de las cosas» el «*noumeno*». Hegel establecería la dialéctica entre la unidad del concepto, y su realidad, para decirnos que «*lo real es racional, y lo racional es real*». Se requiere, pues, tener la certidumbre que lo que se nos presenta a la conciencia no sea sólo algo subjetivo, porque la conciencia es huidiza, no nos oculta lo que aparece, pero hace falta desnudarla del ropaje de las apariencias para recolectar la verdad. Es decir, hace falta un Método fenomenológico, que propugna la obra de Edmund Hursell en «*Logische Untersuchungen*». «La investigación de la Lógica». La conciencia tiende al ser al manifestarse, pero hay que conocer el «*noumeno*», la cosa en sí.

Cuando hacemos una multiplicación estamos ante dos momentos, uno *subjetivo* el deseo de iniciar un cálculo. Otro cuando decimos $3 \times 3 = 9$, que es *objetivo* y con validez universal. Se requiere pues este proceso en que la Filosofía adquiere una calidad científica. Exige el método fenomenológico *una triple reducción*: 1) desprenderse de lo superfluo, de lo externo (*epojé*); 2) buscar la esencia (*eidos*), y 3) buscar la *trascendencia*, que nos permite universalizar lo obtenido. Hursell, judío, fue desprovisto de su Cátedra en tiempo de los nazis, aunque sus obras fueron trasladadas previamente a Lovaina y no fueron destruidas. Fue sustituido como tantas veces, por otro políticamente correcto. Así pues se hace frente al naturalismo, al historicismo, al psicologismo con los visos de relativismo, como el instrumento para conocer la verdad. Reitero mi felicitación por su exposición llena de sugerencias sobre la importancia de la Idea al construir la Hipótesis, y como en las ciencias positivas se requiere el experimento para contrastarla y obtener la validación de la Tesis. Muchas gracias.

Prof. Sánchez García

Quiero felicitar al Prof. John Martin, a quien conocí sin conocer cuando yo deambulaba por las calles de Valladolid y él también y no nos encontrábamos nunca, a pesar de que vivíamos muy cerca. Fue la primera relación que tuve con él sin saber que él existía ni él que yo existía. Después tuve el gran privilegio de representar a la Facultad de Medicina en el 150 aniversario de la Real Academia Nacional de Medicina de Bélgica y allí nos conocimos, posteriormente nos reconocimos en otras reuniones con el Prof. Salvador Moncada, y en otras reuniones en Londres, París, Madrid, haciendo ciencia y hablando de ciencia.

Voy a ser muy breve. A mí me parece que a veces las ideas no son buscadas, sino encontradas, la observación es muy importante para que después surjan las ideas. Después de la observación y la meditación típica en los científicos ingleses que les gusta pensar cinco días a la semana y hacer experimentos uno, porque parece ser que tienen ideas muy brillantes y están muy seguros de ellas.

Prof. Sánchez Granjel

Posiblemente mis compañeros de Academia estarán pensando que por qué un historiador de la medicina se levanta a hablar en esta conferencia. He asistido con mucho cariño, con mucha atención y me ha alegrado mucho oír a un hombre de ciencia valorar la idea y la hipótesis frente al experimento. Ha puesto unos ejemplos muy elocuentes y yo me permitiría añadir uno más, el de Miguel Serveto, médico español del siglo XVI que estudió Medicina en París, que es uno de los grandes centros científicos de la primera mitad del siglo XVI, pero que tiene una preocupación religiosa en la cual va a jugar su porvenir; él anda buscando el alma y cree que el único elemento vivo que discurre por todo el organismo es la sangre, y por tanto hace investigaciones para ver cómo se distribuye la sangre por el organismo, y encuentra así la circulación menor. La ironía de la historia es que este hallazgo lo incluye en un texto teológico de 500 ó 600 páginas, que fue condenado por la Inquisición católica como por la Inquisición de los países protestantes. Fue discutido, tuvo la audacia de aparecer en Ginebra, de discutirlo públicamente con Calvino, quien lo condenó a la hoguera e inmediata-

mente la edición de su libro se destruyó en su totalidad. Por lo tanto, un hallazgo, la circulación menor de la sangre, aparece en unos seis u ocho renglones perdida en un texto de 500 ó 600 páginas y no tuvo ninguna difusión; es decir, en algunos casos es una idea, es una hipótesis, es desear conocer dónde está el alma, el organismo vivo, creer que la única parte del organismo es la sangre que está en todas las partes del organismo, y finalmente llegar a la creencia, a la convicción de que el alma estaría en la sangre y entonces cómo se distribuye, y ahí viene el hallazgo que realiza la circulación menor. Pero no tiene ninguna trascendencia científica porque ese hallazgo, que yo creo que es el primer hallazgo fundamental que hace la medicina española del Renacimiento queda perdido en un texto que no van a leer los médicos porque inmediatamente tras su muerte va a ser destruida la obra.

Es un ejemplo que yo añadiría a esa preciosa colección de ejemplos que nos ha ofrecido, y una cosa que me ha llamado mucho la atención es que haya acudido a Santo Tomás de Aquino y voy a tener que releer algunas partes para ver lo que se ha referido sobre esa gran figura de la baja Edad Media y el creador de toda la filosofía escolástica. Mi felicitación, no por la parte científica porque no puedo calibrarla pero que mis compañeros han dicho que es extraordinaria, sino por esa defensa de la idea y de la hipótesis frente al experimento. Muchas gracias.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Dos interesantes conferencias hemos tenido la suerte de tener hoy. En la primera, el Prof. Tresguerres hace un esquema de lo que podríamos llamar previa fisiopatología a dar una nueva génesis a esa enfermedad tan frecuente que es la obesidad. Las hipótesis de la ciencia llevan al camino del conocimiento fisiopatológico y de la verdad. Me parece que el trabajo del Prof. Tresguerres, desde el fondo fisiopatológico de la obesidad, en la que quedan muchos puntos por conocer, es una gran vía, un gran camino para ir desbrozando lo que en la obesidad se plantea todavía como desconocido. Muchas gracias por ese trabajo que supone un acúmulo de personas pensando sobre experimentos para aclarar muchos aspectos que la obesidad tiene en todos los aspectos de la vida, la obesidad infantil, la obesidad del adulto y la persona obesa ya en la senectud.

La segunda conferencia, pronunciada por el Prof. John Martin sobre la idea, la reflexión, el pensamiento. Sí, quizá los médicos tenemos que pensar más en este sentido que ha esbozado perfectamente en la directriz de su conferencia. ¿Qué dudas existen en tal enfermedad o en tal proceso? ¿Qué hay que analizar para resolver esas dudas? ¿Qué debemos planificar para obtener alguna realidad? Algún resultado positivo, eso yo creo que en el principio de lo que es trabajar en la medicina y en cualquiera de sus especialidades es motivo esencial. Me gustó mucho su conferencia, Prof. Martin y le felicito por la valentía que supone llegar a un lugar y exponer fisiopatológicamente una cuestión médica e implicada en ella ideas reflexivas sobre la propia medicina.

Se levanta la sesión.

XI SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 10 DE MAYO DE 2005

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

**HERPESVIRUS HUMANO 6 Y ESCLEROSIS
MÚLTIPLE**

***HUMAN HERPESVIRUS 6 AND MULTIPLE
SCLEROSIS***

Por el Excmo. Sr. D. GONZALO PIÉDROLA ANGULO

Académico de Número

**NUEVOS DIAGNÓSTICOS BASADOS
EN LOS AVANCES DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR**

***NEW DIAGNOSTICS BASED ON THE ADVANCES
OF THE MOLECULAR BIOLOGY***

Por la Excma. Sra. D.^a M.^a DEL CARMEN MAROTO VELA

Académico de Número

HERPESVIRUS HUMANO 6 Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE

HUMAN HERPESVIRUS 6 AND MULTIPLE SCLEROSIS

Por el Excmo. Sr. D. GONZALO PIÉDROLA ANGULO

Académico de Número

Resumen

En este trabajo se ha estudiado la posible relación etiológica entre la esclerosis múltiple (EM) y el herpesvirus 6 (VHH-6), tema debatido en los últimos años. Se han realizado dos estudios utilizando sangre y LCR de enfermos de EM, y controles en sujetos sanos y con otras enfermedades neurológicas. Se describen las técnicas seguidas para aislar el virus, su ADN y los anticuerpos IgG e IgA frente al VHH-6. No se ha demostrado la presencia del VHH-6 ni de su ADN en ningún caso, pero sí se ha comprobado, con significación estadística, que en los enfermos con brotes de EM, los anticuerpos del tipo IgG, tanto en plasma como en LCR, estuvieron más presentes y en niveles más altos que en los controles.

Abstract

In this work the possible etiologic relationship among the multiple sclerosis and the herpesvirus 6 (VHH-6) has been studied, subject debated in the last years. They have been carried out two studies using blood and LCR of sick of multiple sclerosis, and control in healthy fellows and with other neurological illnesses. The followed techniques are described to isolate the virus, their DNA, and the antibodies IgG and IgA in front of the VHH-6. The presente of the VHH-6 has not been demonstrated neither of its DNA in any case, but if it has been proved, with statistical significance that in the sick persons with buds of multiple sclerosis, the antibodies of the type IgG, as much in plasm as in LCR, was more present and in higher levels that in the controls.

La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad neurológica crónica más frecuente en adultos jóvenes de Europa y Norteamérica. La etiología de este proceso inflamatorio desmielinizante del SNC es desconocida, y los estudios epidemiológicos han demostrado la existencia de un factor microbiano exógeno, que intervendría antes de los 15 años en forma de infección inaparente, al que se añadiría una predisposición genética y la presencia en su patogenia de fenómenos de autoinmunidad.

La relación entre un agente infeccioso y la EM ya fue anticipada en 1884 por el neurólogo francés Pierre Marie, discípulo de Charcot. En los últimos años se ha estudiado el papel que jugarían distintas especies de bacterias, y sobre todo, virus. Los virus que tienen carácter desmielinizante en el SNC son conocidos desde hace mucho tiempo, destacando el virus JC en la leucoencefalopatía multifocal progresiva y el virus del sarampión en la panencefalitis esclerosante subaguda. Además el VIH, el HTLV-1, el virus de la varicela-zóster y el del herpes simple producen también lesiones de la sustancia blanca del SNC. Otros virus poseen la misma acción espontánea en ratones, perros u ovejas (Stohlman, 2001), y existen dos modelos experimentales de desmielinización por virus ARN en ratones: el virus de la encefalomiелitis de Theiler (un picornavirus) y el virus de la hepatitis murina (un coronavirus); en ambos casos la enfermedad se produce con un largo período de incubación, un curso clínico lleno de remisiones y empeoramientos, y un complejo mecanismo patogénico aún no bien conocido. Algo similar a lo que ocurre en humanos y que recientemente se ha intentado explicar por las teorías de Scarisbrick y colaboradores (Guerrero, 2004) denominadas del «Hit-Hit» y de «Hit-Run», en las que ahora no podemos entrar.

El herpesvirus humano 6 (VHH-6) pertenece a la familia *Herpesviridae*, donde se encuentran virus tan conocidos como el causante del herpes oral y genital, varicela-zóster, mononucleosis infecciosa, citomegalovirus y otros. Esta familia se divide en tres grandes grupos, denominados *alfa*, *beta* y *gamma-herpesvirinae*. El VHH-6 es una especie del género *Roseolovirus*, dentro de la subfamilia *Betaherpesvirinae*, y se han descrito dos variedades: VHH-6A y VHH-6B. Con un tamaño de 100-200 nm, se caracteriza estructuralmente por poseer una doble cadena de ADN rodeada de una cápside icosaédrica, con pentámeros y hexámeros, y por fuera de ella hay una envoltura lipoproteica con proyecciones glicoproteicas (Braun, 1997).

Como miembro de la subfamilia *Betaherpesvirinae* presenta genes específicos comprendidos entre U2 y U14, y comparte con VHH-7 del 46,6-84,9 % de identidad en la secuencia de los aminoácidos, y con citomegalovirus del 41-75,8 % de la secuencia de aminoácidos. Presenta genes específicos del género *Roseolovirus* entre U15 y U25, y específicos de la especie VHH-6, como U22, U83 y U94, los más importantes para nuestros estudios.

Como diferencias entre las dos variedades VHH-6A y VHH-6B, podemos citar sus particularidades genéticas y antigénicas, ya que la homogeneidad en el centro del segmento U del genoma se acerca al 99%, mientras que la región IE, la más variable, se limita al 75%, presentando genes que expresan proteínas diferentes. Así mismo tienen diferentes patrones de ER, diferentes formas de regulación de la transcripción (U16, U17 y U91), distintos patrones de corte y unión de sus ARN (U18-U20) y de reactividad frente a paneles de anticuerpos monoclonales. También presentan diferencias en cuanto al crecimiento *in vitro* (VHH-6A en células HSB-2 y VHH-6B en líneas de células T MOLT-3) y al tropismo *in vivo* (VHH-6A por la piel, y VHH-6B por células mononucleares de sangre periférica y tejidos sólidos) (Becker,2005). También se diferencian en cuanto a la patología asociada: mientras que VHH-6B se ha identificado como agente causal en relación con la esclerosis múltiple, VHH-6A no se ha relacionado con ninguna enfermedad.

En cuanto a la esclerosis múltiple (EM), podemos resumir diciendo que es una enfermedad degenerativa del SNC con pérdida progresiva de mielina, inflamación y signos de disfunción neurológica, que se presenta en brotes y períodos con remisión de los síntomas. Afecta a adultos jóvenes, apareciendo el primer brote entre los 20 y 40 años, con una prevalencia que en España supera los 60 casos por 100.000 habitantes. Afecta al doble de mujeres que de hombres, y se le han asociado factores genéticos y ambientales. Entre los factores ambientales se citan la latitud norte, el clima húmedo y frío, infecciones respiratorias, la existencia de coníferas y suelos de turba, alimentación rica en grasas animales, la presencia de fábricas de papel y la posesión de perros. Entre los genéticos, la presencia de genes DQ6 y Dr15 del CMH-II, polimorfismo en los genes IL-IRA (2+)/IL-Iβ(2-) e IL-4 (B1).

Existen múltiples publicaciones en los que se estudia la relación entre diversos herpesvirus y EM. El más estudiado y controvertido es el VHH-6. Fue en 1993 cuando el grupo de Luppi, de la Universidad

italiana de Módena (Luppi, 1993) publicó el primer estudio de detección de VHH-6 en un enfermo de EM. Unos meses más tarde, este mismo grupo (Sola, 1993) comprobó en 126 enfermos de EM y 500 controles sanos la presencia, mediante inmunofluorescencia, de anticuerpos séricos específicos frente al virus, y la presencia en 31 enfermos de ADN vírico, mediante la técnica de la reacción en cadena de polimerasa (PCR). Un año después, el grupo de Wilborn de la Universidad de Berlín (Wilborn, 1994), comprueba la presencia en enfermos de EM de ADN en LCR, y muy altos títulos de anticuerpos séricos detectados por la técnica de ELISA. En agosto de 1995, Challoner publica el trabajo clave del papel del VHH-6 en la EM, pues estudia 86 cerebros de pacientes con EM y controles, demostrando que un fragmento de 341 nucleótidos idéntico al gen principal del VHH-6, tipo B, estaba presente en más del 70% de los enfermos y de los controles, siendo por lo tanto un virus habitual del cerebro humano. Pero en los sujetos con EM, se encontró un teñido selectivo con anticuerpos monoclonales frente a proteínas 101k y p41 de los núcleos de los oligodendrocitos, que no aparecía en los controles. En diciembre de 1997, un grupo de investigadores pertenecientes al National Institut of Health de Estados Unidos publicó en *Nature* (Soldan, 1993) los resultados de un estudio serológico en el que demostraron un incremento significativo de la tasa de anticuerpos séricos de tipo IgM frente al antígeno precoz (p41/38) del VHH-6, así como la presencia del genoma vírico en suero, mediante técnica de PCR en 15 de 20 enfermos con EM, frente a ninguno de los 47 controles con otras enfermedades neurológicas. Otros estudios (Sanders, 1996), sin embargo, pusieron en duda, el papel de este virus, principalmente debido a su presencia en gran cantidad de controles sanos, pues la primoinfección por VHH-6 se produce en la infancia y permanece en los linfocitos de por vida. Estudios realizados desde el 2000 hasta la actualidad (Akhyani, 2000; Knox, 2000); Álvarez-Lafuente, 2002), continúan la controversia entre partidarios y detractores del papel etiológico del herpesvirus 6 en la esclerosis múltiple.

Ante esta situación en la literatura revisada, decidimos realizar un estudio en nuestro medio, valorando un número suficiente de pacientes y controles, que utilizara diversas técnicas microbiológicas estandarizadas, en sangre y LCR, y en el que se estudiara además si el paciente con EM está en fase activa o inactiva, pues este hecho no valorado en muchos estudios previos, podría explicar la disparidad de resultados obtenidos.

Los métodos seguidos han sido los siguientes:

1. Detección del ADN del VHH-6 en muestras biológicas de plasma, leucocitos de sangre periférica y LCR. Se utilizó una prueba de PCR a tiempo real.

PRIMERS DE OLIGONUCLEÓTIDOS. Se investigó un fragmento específico del ADN del VHH-6 mediante un ensayo de PCR desarrollado en nuestro laboratorio. Se obtuvieron los primers a partir de los datos publicados sobre la región 101K (Blood 1991; 77: 2251991). Estos pertenecen a una región en la que existe una importante homología genética entre el VHHV-6A y el VHH-6B, lo que permite la detección simultánea de ambas variantes del virus (Leuk Res 1999;23:625). Se empleó la siguiente pareja de primers: 5'-ACC CGA GAG ATG ATT TTG CG-3' de la posición 20,889; y 5'-GCA GAA GAC AGC AGC GAG AT-3' de la posición 21,100. Fueron proporcionadas por TIB-BIOMOL (Berlín, Alemania). Las secuencias específicas seleccionadas fueron analizadas en el Instituto Suizo de Bioinformática using the servicio BLAST network. Se comprobó que no presentaban homología genética significativa con ninguna otra secuencia de nucleótidos conocida y diferente de la del VHH6. Para evitar los posibles errores en la amplificación se siguieron las pautas recomendadas previamente (Nature 1989; 339: 237).

CEPA CONTROL DEL VHH-6. El Dr. Fernando de Ory del Centro Nacional de Microbiología, adscrito al Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda, Madrid) cedió las células HSB-2 de linfocitos B de leucemia linfoblástica aguda infectadas con el VHH-6A (cepa GS). El cultivo de las células infectadas se realizó con medio RPMI 1640 (BioWhittaker Europe, Bélgica) suplementado con 2% de suero fetal bovino inactivado por calentamiento en baño a 56°C / 30 min (Kraeber 6MBH&Co., Pharmazeutische Rohstoffe, Alemania), con 1% de glutamina, 1% de bicarbonato y antibióticos. Se preparó una mezcla de células no infectadas e infectadas (9:1).

EXTRACCIÓN DEL ADN. Las muestras clínicas y de células infectadas con VHH-6 se trataron con High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Germany) para obtener el ADN. Se partió de 200 µl de la muestra, que se mezclaron con 200 µl de tampón de lisis de tejido (urea 4M, tampón Tris 200 mM, NaCl 200 mM, tampón EDTA 200 mM) y 40 µl de Proteinasa K. Después de incubar a 55°C durante 1 hora, se añadieron 100 µl de tampón de unión [guanidina-HCl 6M, urea 10 mM, Tris-HCl 10 mM, Tritón X-100 (v/v)] y se incubaron a 72°C durante 10 min. Luego se añadie-

ron 100 μ l de isopropanol, se colocó la mezcla en un tubo con filtro de 2 capas de fibra de vidrio y se centrifugó a 8,000 rpm durante 1 min, eliminando el sedimento. Se añadieron 500 μ l de tampón Inhibitor Removal (guanidine-HCl 5M, Tris-HCl 20 mM) al tubo con filtro, y se centrifugó en las condiciones anteriores. Se adicionaron 500 μ l de tampón de lavado (NaCl 20 mM, Tris-HCl 2 mM), centrifugándose en las condiciones previas, y luego a 14,000 rpm durante 10 s. Finalmente, se añadieron 25 μ l de tampón de elución (Tris 10 mM) precalentado a 70°C al tubo con filtro, se centrifugó a 8,000 rpm durante 1 min, y se recogió el producto del tubo recolector. El extraído se repartió en alícuotas de 2 μ l que se almacenaron a -20°C hasta su empleo. Como control interno de extracción del ADN se utilizaron cebadores para el gen de la beta-actina.

CONDICIONES DE LA PCR A TIEMPO REAL. Se llevó a cabo en el Light Cycler System (Roche Diagnostics, Germany) usando SYBR Green I. El volumen final de la mezcla de 18 ml contenía 2 ml de LightCycler FastStart DNA Master^{PLUS} SYBR Green I 1X (Roche Diagnostics, Germany), primers 500nM de cada uno, y el resto de H₂O. A la mezcla se le añadieron 2 μ l del extraído de ADN y se transfirió a los capilares de reacción (Light Cycler Capillaries, Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Alemania). La PCR comenzó con una desnaturalización a 95°C / 10 min; la amplificación consistió en 45 ciclos con las siguientes condiciones: 95°C, 55°C / 10 s y, la elongación a 72°C / 5 s; el melting se realizó de 45°C a 95°C, subiendo 0,5°C cada s y, finalmente se enfrió el amplificado a 40°C / 30 s.

ESTANDARIZACIÓN DE LA PRUEBA. Se clonó el fragmento de 211-pb de la región 101K del HHV-6 que seleccionan los primers con el fin de cuantificar el resultado de la PCR mediante la extrapolación de resultados en una curva con valores estándares. Para ello se amplificó la secuencia diana mediante una PCR convencional, en las condiciones descritas previamente. Los 50 μ l de amplificado se purificaron con el método MICROCON (Millipore Corporation, EE.UU.), según las recomendaciones del fabricante (Biotechniques 1995; 18: 698). Se confirmó la presencia de la banda específica en el amplificado ya purificado mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio. El ADN purificado se insertó en el vector PCR 4-TOPO del TOPO TA Cloning Kit for Sequencing (Invitrogen, The Netherlands) usando colonias de *Escherichia coli* químicamente competentes, siguiendo las condiciones recomendadas por el fabricante. Se midió la cantidad del extraído de ADN plas-

médico a 260 nm mediante el GeneQuant pro RNA/DNA Calculator (Amersham Biosciences, EE.UU.). Por último, se prepararon diluciones seriadas de estos extraídos, desde 1 ng / μ l (que equivale a $2,19 \cdot 10^8$ copias / μ l) hasta 10^{-8} ng / μ l (que equivale a 2,19 copias / μ l).

2. Determinación de IgG e IgA en suero y LCR.

La exactitud y reproducibilidad de los resultados se comprobó previamente, aceptándose variaciones en la absorbancia de las muestras no superiores al 5%. Las pruebas fueron validadas sobre muestras estudiadas previamente en nuestro laboratorio.

El estudio de la IgG e IgA anti-VHH-6 se realizó mediante un de ELISA indirecto. Para ello se prepararon diluciones de las muestras y controles al 1:100 con diluyente de muestra (tampón salino Tris). Se mezclaron por pipeteo. Se dispensaron 100 μ l de controles (control positivo, positivo límite por duplicado basado en el límite superior de muestras que carecían de IgG anti-VHH-6, y control negativo) y muestras diluidas en sus respectivos pocillos (poliestireno recubierto con antígeno purificado de VHH-6). El virus empleado fue la variedad A de VHH-6 cultivado sobre células HBS2 hasta que más del 90% de las células mostraron efecto citopático. Se incubó a 37° C durante 20 minutos. Se lavó 6 veces con tampón de lavado diluido en 19 partes de agua destilada. Se dispensaron 100 μ l de conjugado anti-IgG humana de origen ovino marcada con peroxidasa de rábano. Se incubó la placa a 37° C durante 20 minutos. Se lavó como se indicó anteriormente. Se dispensaron 100 μ l de cromógeno / sustrato (mezcla de tetrametilbencidina en peróxido de hidrógeno) en cada pocillo. Se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se pipetearon 100 μ l de solución de parada (ácido fosfórico 1M) en cada pocillo. Se leyó la absorbancia antes de 30 minutos a 450 nm / 600-650 nm. En el caso de la IgA las muestras fueron diluidas a 1:40 con una mezcla 1/1 de tampón PBS y una solución de anticuerpos anti-IgG (RF-Absorbent®, Dade Behring). El conjugado (anti-IgA humana de conejo marcada con peroxidasa, Dade Behring) se mantuvo durante 60 minutos a 37° C; el cromógeno (mezcla 1/1 de dihidrocloruro de tetrametilén bencidina (5 g / l), Enzygnost® / TMB, (Dade Behring) con peróxido de hidrógeno 0,1 g / l) se aplicó 30 minutos a 20° C, y la solución de parada (ácido sulfúrico 0,5 N), durante 10 minutos. La placa de ELISA se leyó a 650 / 450 nm.

3. Cultivo del VHH-6 en muestras biológicas de plasma, leucocitos de sangre periférica y LCR.

Se empleó el siguiente protocolo:

- Realizar recuento de los Buffy coat.
- Por cada muestra (LCR, leucocitos, plasma) añadir en proporción 1: 9 de células (salvo en el plasma) y células HBS-2 y MOLT-3 en medio RPMI con 10% de SFB, 0,01 mg/ml dehidrocortisona y 0,1-5 U/ml de interleukina 2 recombinante.
- Incubar durante 10 días a 37°C.
- Centrifugar cada tubo a 700 g durante 5-10 minutos y recoger el sedimento.
- Lavar con PBS pH 7,2 tres veces y realizar unas extensiones.
- Realizar una tinción de inmunofluorescencia empleando anticuerpo monoclonal frente a p41/p38 y gp116/54/64 de Advanced Biotechnologies Inc.

Se usó un método estadístico basado en los siguientes estudios:

- Variables cuantitativas: media y desviación estándar.
- Relación entre variables cuantitativas: test de Student.
- Relación entre variables cuantitativas y cualitativas: test de χ^2 de Pearson.
- Correlación entre títulos y orden secuencial de las muestras: test de Wilcoxon.

En una primera fase (enero 2002 – julio 2004) realizamos un estudio prospectivo de casos y controles, en un número total de 157 sujetos: 86 pacientes de esclerosis múltiple (criterios Poser), usando como controles, 48 con otras enfermedades neurológicas y 23 sanos (anestesia). No se incluyeron 30 inciertos, ni tampoco 2 perdidos. Se obtuvieron muestras de suero, plasma, células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y LCR, determinándose ADN del virus VHH-6, e IgG e IgA frente al mismo en suero y LCR. En las tablas siguientes se recogen los resultados obtenidos.

Los resultados obtenidos de este primer estudio demostraron que no existen datos estadísticamente significativos que indiquen la presencia del virus ni su ADN, en ninguna de las pruebas estudiadas en los enfermos de EM, ni tampoco existen altos valores de IgG anti-VHH-6 en ellos.

Tabla de contingencia casosEM vs controles (OEN+Anest) * resultado PCR VHH6 de LCR

Recuento

		resultado PCR VHH6 de LCR		Total
		0	1	
casosEM vs controles (OEN+Anest)	control	66	4	70
	EM	80	6	86
Total		146	10	156

Tabla de contingencia casosEM vs controles (OEN+Anest) * resultado PCR VHH6 en plasma

Recuento

		resultado PCR VHH6 en plasma		Total
		0	1	
casosEM vs controles (OEN+Anest)	control	66	3	69
	EM	82	4	86
Total		148	7	155

Tabla de contingencia casosEM vs controles (OEN+Anest) * resultado PCR VHH6 en células

Recuento

		resultado PCR VHH6 en células		Total
		0	1	
casosEM vs controles (OEN+Anest)	control	64	5	69
	EM	79	6	85
Total		143	11	154

Tabla de contingencia casosEM vs controles (OEN+Anest) * resultado IgG VHH6 de suero dicotómica +/-

Recuento

		resultado IgG VHH6 de suero dicotómica +/-		Total
		negativo	positivo	
casosEM vs controles (OEN+Anest)	control	26	38	64
	EM	26	53	79
Total		52	91	143

Tabla de contingencia casos EM vs controles (OEN+Anest) * resultado IgA VHH6 de suero dicotómica +/-

Recuento		resultado IgA VHH6 de suero dicotómica +/-		Total
		negativo	positivo	
casos EM vs controles (OEN+Anest)	control	40	24	64
	EM	52	28	80
Total		92	52	144

En una segunda fase, a partir de 2004, se han estudiado prospectivamente un total de 300 muestras de plasma (100), de leucocitos (100) y LCR (100) procedentes de 58 sujetos con esclerosis múltiple (28 en actividad, 17 en fase inactiva y 13 en situación incierta), edad $34 \pm 9,3$ años y el 76% de sexo femenino, 32 controles (sujetos sanos que se sometieron a anestesia y enfermos con otros procesos neurológicos diferentes a EM, de edad $44,9 \pm 5,7$ años y 78% mujeres, y 10 individuos con un diagnóstico no bien establecido (hasta el 10 de noviembre de 2004).

En este estudio no se pudo aislar en ningún caso el virus estudiado, ni en las muestras de LCR ni en sangre, ni en ninguna de las 300 muestras clínicas analizadas se consiguió detectar el ADN del VHH-6. Sin embargo, y como demuestran las tablas 1 y 2 se

	IgG anti-Herpes 6	IgA anti-Herpes 6
EM activa	67.9 (1.71+0.93)	50 (1.5+1.17)
EM inactiva	47.1 (1.65+1.03)	41.2 (1.22+0.97)
EM inciertos	83 (1.86+1.18)	23.1 (1.23+1.71)
EM total	64.9 (1.83+1.07)	41.4 (1.36+1.24)
Control	48.4 (1.24+0.65)	38.7 (1.20+0.94)
TOTAL	62.2 (1.61+0.94)	39.4 (1.30+1.14)
	IgG anti-Herpes 6	IgA anti-Herpes 6
EM activa /Control	p=0.004 (Anova)	p=0.285 (Anova)
EM inactiva /Control	p=0.094 (Anova)	p= 0.938 (Anova)
EM total / Control	p=0.006 (Anova)	p=0.541 (Anova)

TABLA 1. En la parte superior porcentaje de los resultados positivos obtenidos en suero, y en la parte inferior significación estadística de los mismos.

	IgG anti-Herpes 6	IgA anti-Herpes 6
EM activa	42.3 (11/26)	0 (0/26)
EM inactiva	31.3 (5/16)	0 (0/16)
EM inciertos	8.3 (1/12)	0 (0/12)
EM total	31.5 (17/54)	0 (0/54)
Control	3.4 (1/29)	0 (0/29)
TOTAL	21.6 (18/83)	0 (0/83)
	IgG anti-Herpes 6	IgA anti-Herpes 6
EM activa /Control	p=0.011 (X ²)	p=N.S.
EM inactiva /Control	p=0.067 (X ²)	p=N.S.
EM total / Control	p=0.013 (X ²)	p=N.S.

TABLA 2. En la parte superior porcentaje de los resultados positivos obtenidos en LCR, y en la parte inferior significación estadística de los mismos.

encontró una significación estadística muy importante al comparar los resultados de la IgG anti-VHH-6 sérica entre la EM en fase activa y los controles, e igualmente entre la IgG en LCR y los controles, lo que indica un marcado aumento de estos anticuerpos en los sujetos en fase activa de su esclerosis múltiple.

En conclusión, nuestros estudios pueden resumirse en dos puntos:

- **En nuestro estudio no se ha podido demostrar la presencia de VHH-6 o su ADN, ni en suero ni en LCR.**
- **La IgG estuvo más presente y en niveles más altos, tanto en suero como en LCR, en los sujetos con esclerosis múltiple en fase de brote.**

Este trabajo ha sido realizado por un equipo formado por los doctores M. Guerrero, J. Gutiérrez, A. Sorlózano, C. Serrano, M. C. Maroto y G. Piédrola.

Este estudio ha contado con las siguientes ayudas:

- Fundación Española de Esclerosis Múltiple. 1998-1999
- Consejería de Sanidad de la Junta de Andalucía. 2002-2003
- Universidad de Granada. 2003
- Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía. 2003-2006.
- Convenio de colaboración entre la Universidad de Granada y SERONO, S.A. 2005.

BIBLIOGRAFÍA

- ÁLVARIZ LAFUENTE, R.; MARTÍN-ESTEFANÍA, C.; DE LAS HERAS, V.; CASTRILLO, C. y cols.: «Active human herpesvirus 6 infection in patients with multiple sclerosis». *Arch Neurol* 2002; 59 (6): 929-933.
- ÁLVARIZ-LAFUENTE, R.; MARTÍN-ESTEFANÍA, C.; DE LAS HERAS, V.; CASTRILLO, C. y cols.: «Prevalence of herpesvirus Dna in MS patients and healthy blood donors». *Acta Neurol Scand* 2002; 105(2): 95-99.
- AKHYANI, N.; BERTI, R.; BRENNAN, M.B.; SOLDAN, S.S., y cols.: «Tissue distribution and variant characterization of human herpesvirus (HHV)-6: increased prevalence of HHV-6A in patients with multiple sclerosis». *J Infect Dis* 2000; 182 (5): 1321-1325.
- BECKER, D.; ZIEGELMAIER, S.; WACH, S.; LAUE, T.; GREWING, T.: «Development and validation of a new real-time PCR assay for HHV-6 detection and differentiation of HHV-6A and HHV-6B». *Clin Microb Infect* 2005; 11, suppl 2, 283.
- BRAUN, D.K.; DOMÍNGUEZ, G.; PELLET, P.E.: «Human herpesvirus 6». *Clin Microbiol Rev* 1997; 10 (3): 521-567.
- CHALLONER, P.B.; SMITH, K.T.; PARKER, J.D.; MACLEOD, D.L. y cols.: «Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis». *Proc Acad Sci USA* 1995; 92(16): 7440-7444.
- GUERRERO, M.; GUTIÉRREZ, J.: «Posible etiología infecciosa de la esclerosis múltiple: herpesvirus humano 6 y *Chlamydomyxa pneumoniae*» (8 de diciembre de 2003; http://www.prous.com/ttm/esclerosis_multiple/main_spn.cfm?&ID_dis=178&ID_cou=20&var_gif=Esclerosis.gif&var_x=121&var_y=14&CFID=935010&CFTOKEN=44765958).
- GUTIÉRREZ, J.; VERGARA, M.J.; GUERRERO, M.; PIÉDROLA, G., y cols.: «Multiple sclerosis and human herpesvirus 6». *Infection* 2002; 30(3): 145-149.
- KNOX, K.K.; BREWER, J.H.; HENRY, M.; HARRINGTON, D.J.; CARRIGAN, D.R.: «Human herpesvirus 6 and multiple sclerosis: Systemic active infections in patients with early disease». *Clin Infect Dis* 2000; 31 (4): 894-903.
- LUPPI, M.; MARASCA, R.; BAROZZI, P.; FERRARI, S. y cols.: «Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: Integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA». *J Med Virol* 1993; 40 (1): 44-52.
- SANDERS, V.J.; FELISAN, S.; WADELL, A.; TOURTELLOTTE, W.W.: «Detection of herpesviridae in postmortem multiple sclerosis brain tissue and controls by polymerase chain reaction». *J Neurovirol* 1996; 2(4): 249-258.
- SOLA, P.; MERELLI, E.; MARASCA, R.; LUPPI, M. y cols.: «Human herpesvirus 6 and multiple sclerosis: Survey of anti-HHV-6 antibodies by immunofluorescence analysis and of viral sequences by polymerase chain reaction». *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993; 56(8): 917-919.
- SOLDAN, S.S.; BERTI, R.; SALEM, N.; SECCHIERO, P., y cols.: «Association of human herpesvirus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA». *Nat Med* 1997; 3(12): 1394-1397.
- STOHLMAN, S.A.; HILTON, D.R.: «Viral induced demyelination». *Brain Pathol* 2001; 11 (1): 82-106.

WILBORN, F.; SCHMIDT, C.A.; BRINKMANN, V.; JENDROSKA, K. y cols.: «A potential role for human herpesvirus type 6 in nervous system disease». *J Neuroimmunol* 1994; 49: 213-214.

INTERVENCIONES

Prof. Pérezagua Clamagirand

Tengo que felicitar a mi querido compañero y amigo por el trabajo de investigación extraordinario que ha hecho. A mí me ha preocupado alguna vez la esclerosis múltiple cuando entonces se relacionaba fundamentalmente con el virus del sarampión. Le quiero hacer una pregunta que quizá pueda ayudar en el futuro a sus investigaciones. Todos sabemos cómo la esclerosis múltiple evoluciona por brotes y cómo los brotes en la mujer, que es el sujeto más frecuentemente afecto por esta patología aparecen o coinciden con los embarazos. Se produce una activación y por cada embarazo tienen una serie de defectos neurológicos a continuación.

Yo creo que sería interesante que en un pequeño grupo, si pudiera el Prof. Piédrola ver la relación que puede tener el virus herpes y la hormonología del embarazo. Sería un dato más a tener en consideración en sus investigaciones que parecen que van a continuar. Enhorabuena.

Prof. Domínguez Carmona

Enhorabuena al Prof. Piédrola por esta brillantísima conferencia a la que nos tiene siempre acostumbrados. Voy a retroceder mucho en el tiempo, a una época en la que no se conocía la existencia de este tipo de virus, pero se hablaba de neorickettsias. Durante mi estancia en el Instituto Pasteur, por los años cincuenta, en el laboratorio en el cual yo trabajaba, se atribuía la esclerosis múltiple precisamente a la presencia de un agente no viral, sino neorickettsia. Yo soy un poco escéptico en muchas cosas relacionadas con estos descubrimientos que no tienen un apoyo sustancial. Hice un estudio de la mortalidad de la esclerosis múltiple en España, datos completamente objetivos, y lo publiqué.

Ya entonces se pensaba en la etiología viral específica relacionada incluso con el contacto de animales. Quiero recordar un libro que

pocos de ustedes lo conocerán por razones obvias de edad, es un libro del Prof. Alberca llamado *Neuraxitis Ectotropas* en el que mencionaba la posible etiología vírica de la esclerosis múltiple. Enhorabuena, Gonzalo.

Prof. Suárez Fernández

En primer lugar, felicitar al Prof. Piédrola porque nos ha expuesto una conferencia de actualidad y muy bien llevada en todos sus aspectos. Yo sólo quiero hacer una consideración y pedir que aclare un poco más cómo interpreta él que se encuentren reacciones serológicas positivas, que se encuentren anticuerpos frente a la variante 6 del virus herpes, y, sin embargo, no se encuentre el ácido nucleico correspondiente.

Prof. Portugal Álvarez

Creo que el Prof. Piédrola ha presentado unos datos verdaderamente interesantes y originales no existentes todavía en la literatura mundial. Con estas técnicas muy elegantes que él ha realizado ha encontrado que en la fase de actividad, en la fase de brote de la enfermedad aparecen datos que indican una nueva actividad del virus que estaba latente; una de las propiedades que tienen los herpes virus es permanecer latentes mucho tiempo y ése es un dato que es verdaderamente original y que sugieren algunas preguntas que pueden tener interés clínico. ¿Por qué se produce esa actividad, qué es lo que puede producir en el virus ese brote de actividad? ¿Cómo esa actividad del virus es capaz de producir el brote, es decir, cómo se imbrica la patogenia de la enfermedad? Muchas gracias.

Prof. Díaz-Rubio García

Igualmente me sumo a mis predecesores y creo que se trata de un trabajo muy bonito, muy elegante, sobre todo muy novedoso y muy original. Yo sólo quiero hacer dos preguntas que me han sugerido, al igual que ocurre con otras enfermedades infecciosas de naturaleza viral. La primera sería, ¿dónde está el virus, cuál sería

su ubicación en el organismo, si tiene pensado alguna metodología que nos pudiera aproximar si el virus es realmente responsable de la enfermedad? En segundo lugar, preguntarle si en este grupo de pacientes alguno de ellos estaba sometido a tratamiento con interferón o si se les sometiera a interferón piensa que podría cambiar la cifra de IgG que nos ha presentado. Muchas gracias.

CONTESTACIÓN DEL PROF. PIÉDROLA ANGULO

Quiero agradecer a los Señores Académicos que han intervenido sus palabras de elogio y el interés que han tomado en un tema tan complejo como la posible etiología vírica de la esclerosis múltiple.

Intentaremos, Prof. Perezagua, realizar algún estudio de brotes de esclerosis múltiple en embarazadas, si bien no es fácil la detección de la muestra por el reducido número de casos. Gracias por tu aprobación, querido compañero.

El no haber encontrado en ningún caso el VHH6 en nuestro estudio, Profesor Suárez, debo aclarar que nos decepcionó sobremedida, pero los resultados en investigación no coinciden muchas veces con nuestros deseos. Y, si aparecen los anticuerpos IgG e IgA en suero, e IgG en LCR, ¿a qué se debe? La contestación a su pregunta podría explicarse por una infección precoz en la infancia, por la no presencia en el suero y LCR y sí en tejido cerebral, o por una detección inadecuada del virus, que algunos autores han encontrado, y otros tantos como nosotros, no lo han detectado.

A la pregunta del profesor Portugal de si se produce en los brotes una activación del virus que le implique en la patogenia de la enfermedad, sólo puedo contestarle que ése era el objetivo de nuestro estudio, pues como antes cité, no existen datos por separado de la presencia del virus o anticuerpos en momentos de brote o estabilidad. Nosotros, en este trabajo, hemos demostrado un aumento estadísticamente significativo de la IgG anti-VHH6 en la esclerosis múltiple activa, pero no la presencia del virus, como antes he dicho. Pero el hecho del aumento de la IgG indicaría que algo ha sucedido en el brote, y ello puede ser la reactivación del VHH6. Debe estudiarse más a fondo el tema, pero no hay duda de su gran trascendencia. Muchas gracias, al igual que al profesor Domínguez Carmona por sus cariñosas palabras.

Con respecto a dónde se encontraría el virus ubicado en el or-

ganismo, profesor Díaz Rubio, parece lógico pensar que estaría en las células del sistema nervioso, lugar común de latencia de los herpesvirus. Podría localizarse en las neuronas ganglionares o en las propias neuronas cerebrales, ya que, como he citado, se detectó en oligodendrocitos (Challoner, 1995) y en LCR repetidas veces. Pero desde que Sanderson en 1996 lo detectó en linfocitos de sangre periférica, hay que pensar en la difusión de las partículas víricas por todo el organismo, lo que hace el tema aún más complejo. En cuanto al tratamiento de los casos con interferón, no fue recogido en nuestro trabajo. Gracias por tus palabras de aliento.

**NUEVOS DIAGNÓSTICOS BASADOS
EN LOS AVANCES DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR**
***NEW DIAGNOSTICS BASED ON THE ADVANCES
OF THE MOLECULAR BIOLOGY***

Por la Excma. Sra. D.^a M.^a DEL CARMEN MAROTO VELA

Académico de Número

Resumen

Debido al avance de las nuevas tecnologías de Biología Molecular, se hace una exposición de las más recientes (Reacción en Cadena de la Polimerasa, Secuenciación y Microarrays), y se comenta su aplicación en el campo de la Medicina Clínica, de la Farmacología y, sobre todo, de los Centros de Diagnóstico, en especial en Microbiología. Ante todo ello, se plantean toda una serie de retos y problemas a solucionar, pero también se abren unas nuevas expectativas con la creación de nuevos Servicios, introducción de nuevos profesionales no médicos, y ampliación de la capacidad diagnóstica.

Abstract

Due to the advance of the ne technologies of molecular biology, an exposition of the most recent is made (reaction in chain of the polimerasa, sequence and microarrays), and its application is commented in the field of the clinical medicine, of the pharmacology, and mainly, of the centers of diagnostic, especially in microbiology. Above all it, they think about an entire series of challenges and problems to solve, but some new expectations also open up with the creation of new services, introduction of new professionals no doctors and amplification of the diagnostic capacity.

Excmo. Sr. Presidente
Excmos. Sres. Académicos
Sras., Sres.

En los últimos años, los diagnósticos en el campo de la Medicina han avanzado de una forma vertiginosa debido a muchos hechos, pero, sobre todo, al desarrollo de las nuevas tecnologías. Por eso hemos considerado interesante traer aquí cuáles son esas tecnologías, sus fundamentos y sus aplicaciones.

Para ello hemos dividido esta exposición en cuatro grandes apartados: uno primero en el que daremos algunas pinceladas esenciales sobre diferentes aspectos genéricos de la actual Biología Molecular, y otros posteriores sobre sus aplicaciones en el campo de la Medicina y de los Servicios Centrales. Terminaremos con un resumen final sobre las consecuencias que se pueden derivar de dichos diagnósticos y los requisitos necesarios para la introducción de las nuevas tecnologías.

1. Aspectos generales de la actual Biología Molecular

El conocimiento del genoma de los microorganismos no es algo nuevo, ya que fue precisamente en algunas bacterias, especialmente *Escherichia coli*, donde se iniciaron los nuevos experimentos de genética, de inserción de plásmidos, etc. Posteriormente fueron los virus y, por citar un ejemplo, conocemos todo el ARN del virus de la hepatitis C, sin saber realmente cuál es su estructura. En la figura nº 1, les mostramos el genoma del virus de la Fiebre del Oeste del Nilo, que era desconocido hasta hace muy poco tiempo, y que permitió demostrar que el brote epidémico ocurrido en Nueva York en el que perdieron la vida diferentes personas de edad avanzada de unos procesos encefálicos, era el mismo que el aislado en otro brote, coetáneo en el tiempo, en este caso en los flamencos rosas del zoológico del barrio del Bronx.

El conocimiento del genoma humano es más reciente, y en este momento sabemos que está formado por 3.200 millones de nucleótidos emparejados en combinaciones de cuatro bases, que da lugar a 40.000 genes. De esos genes, y esto es importante, conocemos la actividad de algunos, pero existen 1.500 responsables de procesos desconocidos. Por otra parte, aunque compartimos las secuencias en

el 99% de los casos, diferimos en el resto, lo que conllevaría una mayor o menor susceptibilidad a padecer diferentes procesos, así como a responder de forma diferente a los medicamentos. Consecuentemente, ello podría dar lugar a diferentes eficacias frente a los mismos, y aparición de efectos secundarios variables.

El concepto de genómica ha sufrido diferentes cambios, existiendo muchas definiciones sobre la misma que van, desde las más simples (estudio de genes), a otras más complejas pero más exactas (estudio global molecular de grupos de genes y sus interacciones, y no sólo el de los genes y las proteínas de forma aislada).

Formas de estudio del Genoma

Se puede hacer de forma cualitativa, cuantitativa e incluso más compleja mediante el conocimiento del proteoma (proteínas), del metaboloma (metabolismo) o del Pathway analysis. Las técnicas más utilizadas son tres: las de la Reacción en Cadena de la Polimerasa y sus variantes, las de Secuenciación, y las de Microarrays.

- *Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)*

La doble hélice de ADN tiene la capacidad de desnaturalizarse (separarse ambas cadenas) en determinadas circunstancias, y luego ser capaz de unirse (hibridarse) con otra cadena que sea complementaria y que conocemos, denominada sonda. Para saber si se ha producido esa hibridación, se recurre a diversas técnicas de visualización mediante fluorescencia, utilización de enzimas, etc.

En el caso de la PCR se utiliza para **amplificar** determinadas zonas de un ácido nucleico que se encuentra en pequeña cantidad. Sería, por ejemplo, tratar de determinar el ADN de *Mycobacterium tuberculosis* en LCR, ya que muchas veces el número de bacilos es muy escaso e indetectable por simples técnicas de hibridación. Se basa en el tratamiento con ciclos sucesivos de cambios de calor en un aparato denominado termociclador, la presencia de nucleótidos y, sobre todo, de un enzima, la Taq polimerasa que ayuda a la replicación. Con esta técnica, donde habría, en condiciones normales, escasas copias de un ADN, obtendríamos miles de copias.

- *Técnicas de secuenciación*

El objetivo no es amplificar un producto, sino **determinar el orden** que tienen los nucleótidos en un determinado fragmento de ADN. La metodología es similar a la de la PCR, pero con un producto final lineal que lleva a un pool de cadenas diferentes de distintos tamaños, separándolos por electroforesis.

En esta técnica los cebadores están marcados con fluoróforos distintos. La adición de la mezcla de secuenciación de un dd NTP actuará como terminador de la reacción, originando tantos fragmentos como posibles paradas se puedan producir. Para este tipo de técnica se necesitan cuatro reacciones de secuenciación para cada región a determinar: en cada una de ellas se determinarán las paradas adenina (A), citosina (C), guanina (G) y timina (T). La electroforesis de cada una de estas reacciones permitirá obtener un electroferograma (patrones de picos) y, una vez combinadas las cuatro bases, obtener la secuencia estudiada (fig. nº 2). En la actualidad, hay equipos de secuenciación asistidos por ordenador que automatizan todo el proceso. En la fig. nº 3 aparece información sobre la secuenciación de un fragmento del gen del VIH que codifica la proteasa, estudiado en nuestro laboratorio.

- *Técnicas de microarrays*

Como hemos visto anteriormente, en las otras técnicas podíamos amplificar y ordenar las secuencias, pero siempre de un número muy limitado de genes y en un único experimento. En el caso de los arrays, podemos analizar, en espacios pequeñísimos (slides), patrones de expresión de **millones de genes** en un solo experimento de hibridación, y de una **forma masiva y simultánea**.

Existen diferentes tipos (de c DNA o spotted arrays), de oligonucleótidos, etc., y su único problema es que, debido al elevadísimo número de datos generados (tantos cuantos hipotéticos ácidos nucleicos hayamos depositado en el soporte sólido y que vayamos buscando) tienen una difícil interpretación, por lo que es absolutamente necesario la bioinformática. En la figura nº 4 aparece un ejemplo de un array con cientos de ácidos nucleicos hibridados y que pueden presentar numerosos colores; en la figura nº 5 aparece un array para el diagnóstico de neumonías víricas y en la figura nº

6 otro más pequeño, en este caso para neumonías atípicas (*Legionella*, *Coxiella* y *Mycoplasma*).

2. Aplicaciones en el campo de la Medicina

Existe un amplio campo de aplicación, no sólo en el caso de los procesos infecciosos, como ya hemos visto, sino también en Oncología para el estudio de nuevos marcadores, en los procesos neurológicos, cardiovasculares, enfermedades metabólicas, hereditarias, etc.

Lo importante de todo esto, es que nos puede llevar a la concepción, no sólo teórica, sino práctica, de una Medicina más individualizada, más personalizada, así como a una Medicina más predictiva y preventiva.

3. Aplicaciones en el campo de la Farmacología

Los estudios en Farmacología son, junto con los del diagnóstico de diferentes cuadros clínicos, los que se encuentran más avanzados. El desarrollo de nuevas dianas terapéuticas, el estudio de receptores de transporte, el camino de señalización de células, el dominio de las alteraciones metabólicas, la identificación de los posibles riesgos individuales y el estudio de resistencias a los fármacos, son puntos importantes en los que los estudios de la genómica nos pueden llevar a lo que se denomina ya «Taylor therapy» o terapia individualizada.

4. Aplicaciones en los Servicios Centrales, en especial, en la Microbiología

En este aspecto, podemos separar dos partes: diagnóstico de los procesos infecciosos, y estudio de los fenómenos de resistencia de las bacterias y los virus frente a diferentes fármacos.

Mediante el conocimiento del genoma bacteriano o vírico, podremos realizar el diagnóstico de paneles frente a distintos agentes responsables de enfermedades infecciosas. En este momento ya están a punto, además de los ya citados anteriormente, algunos arrays

para el diagnóstico de sepsis o de meningitis, en cuyos «slides» se encuentran fijados prácticamente todos los posibles agentes etiológicos. Como es natural, esto permitiría un diagnóstico rapidísimo (nos evitaríamos los métodos clásicos de aislamiento del microorganismo, cultivo, identificación, etc.), y siempre, además con una gran sensibilidad y especificidad.

Podríamos, también, determinar de forma exhaustiva las características del patógeno y su virulencia o, por el contrario, su carácter de mera colonización; la detección de mutaciones y polimorfismos que serían responsables de los fenómenos de resistencias; el tipado y subtipado de bacterias o virus (absolutamente necesarios para la localización epidemiológica exacta de los brotes epidémicos), y la monitorización de los tratamientos víricos ya que, por ejemplo, hoy en día no se concibe hacer un tratamiento de los virus de las hepatitis B, C ó del VIH sin comprobación de la carga viral, etc.

Otro aspecto importante es el de las pruebas de resistencia a los fármacos, que pueden clasificarse en genotípicas y fenotípicas. Las primeras determinan las mutaciones en la secuencia primaria de nucleótidos de determinadas zonas (en el caso del VIH de las transcriptasa inversa o de la proteasa), comparándolos con la secuencia de una cepa salvaje. La fenotípicas se expresan en términos de concentración del fármaco necesario para inhibir la replicación en cultivo celular. En este momento, en nuestro Laboratorio (que es Centro de Referencia para Andalucía de resistencias frente a antirretrovíricos) se estudia también el fenotipo virtual, que es el fenotipo estimado a partir del genotipo. Esta predicción se basa en la comparación de miles de muestras geno-fenotípicas existentes en una base de datos, que dispone de unos 30.000 emparejamientos.

Todos estos estudios llevan consigo una serie de **retos** para los Centros Diagnósticos, tales como una mayor carga de trabajo con una Cartera de Servicios más amplia, y la existencia de una mayor variedad en el tipo de muestras de las que se puede partir. Evidentemente, dispondríamos de una mejora en la calidad del trabajo, aún cuando el costo, al menos al principio, sería más elevado. Igualmente existiría un incremento en la demanda de patógenos, especialmente de tipo vírico (recordemos los problemas por los nuevos coronavirus, las variabilidades del virus de la gripe o del VIH, o incluso la necesidad del estudio de algunos nuevos como el ya citado de la Fiebre del Oeste del Nilo, verdadero virus emergente; y tantos otros), e incluso de bacterias o parásitos.

También plantea algunos problemas, pues no todos los laboratorios tienen que realizar dichas determinaciones, haciéndose la selección de los mismos en virtud de los requerimientos del propio laboratorio y del Hospital en el que está ubicado, la necesidad de un personal muy experto y, por supuesto, el poder contar con recursos de apoyo de bioinformática, sin los cuales sería imposible su realización.

5. Conclusiones

Podríamos resumir nuestra exposición en tres apartados:

1. Necesidad de una unión completa entre la genómica del patógeno y la humana. Esto se traduciría en el conocimiento sobre las características del patógeno que nos permitan predecir su virulencia, evolución y respuesta al tratamiento. Y un conocimiento de la genómica de la propia persona para saber cómo respondería frente al proceso patológico. Esto nos llevaría, como decíamos anteriormente, a colaborar en una Medicina más personalizada.

2. Necesidad de tener en cuenta toda una serie de consecuencias que iban a derivarse, y que abarcarían no sólo los aspectos generales dentro de la Medicina o específicos dentro de los Servicios Diagnósticos, sino posiblemente la creación de nuevos Servicios (con la entrada de nuevos profesionales, sobre todo biólogos moleculares), un mayor impulso en el desarrollo científico y, si fuéramos capaces de controlarlo, un uso más racional de los recursos.

3. Necesidad del cumplimiento de algunos requisitos, como pueden ser:

— Educar a la industria (para que colabore en la enseñanza de los conocimientos y en el abaratamiento de los costes), a los laboratorios (que debemos cambiar totalmente la concepción de nuestros servicios), al clínico, que va a recibir una información completamente distinta), e incluso a los pacientes.

— Trabajar todos juntos, en equipo, para cubrir las diferentes necesidades.

— Disponer de unos marcos éticos, jurídicos y sociales que nos permitan siempre actuar de una forma no lesiva para el enfermo. Recordemos, como decía Einstein, «Que el hombre y su seguridad deben constituir la preocupación fundamental de toda aventura tecnológica. No olvidéis nunca esto cuando estéis metidos de lleno en vuestros planos y en vuestras ecuaciones».

En resumen, nuestros Centros Diagnósticos han variado sobremanera (fig. nº 7). Antes (que es todavía ahora), ocupábamos mucho espacio, trabajábamos más artesanalmente, disponíamos de un abundante personal técnico, y tardábamos bastante tiempo en dar nuestros resultados. Como consecuencia, la Medicina era más hipotética y menos personalizada. En un futuro próximo, el espacio será más pequeño, estará totalmente cubierto de máquinas que lo hacen casi todo, de ordenadores que nos validarán los resultados, y en los que la mano de obra estará totalmente disminuida y ocupada por un alto número de profesionales no médicos.

En cualquiera de los casos, como todo lo que avanza la ciencia debe de llegar a la vida real, es evidente que debemos asimilarlo y participar de una forma activa en el progreso. Por otra parte, en la Medicina siempre primará la relación entre el médico y el paciente, porque como decía Unamuno, «el dolor no basta con curarlo, hay que comprenderlo». Y amarlo, diría yo.

BIBLIOGRAFÍA

- ÁLVAREZ, M.; GARCÍA, F.; MARTÍNEZ, N.; GARCÍA, F. JR.; BERNAL, C.; MAROTO, MC.; PIÉDROLA, G.; HERNÁNDEZ, J.: «Introduction of HIV type 1 non subtypes into eastern andalusia through inmigration». *J. Med. Virol.* 2003; 70: 10-13.
- ÁLVAREZ, M.; GARCÍA, F.; MARTÍNEZ, N.; HERNÁNDEZ-QUERO, J.; LOUWAGIE, J.; DE BROWER, L.; MAROTO, MC.: «Retrospective analysis of antirretroviral HIV treatment success based on medical history or guided by reverse hybridisation LIPA HIV genotypes system». *J. Med. Virol.* 2004: 1-3.
- BARRIO, J.: «La medicina individualizada: una nueva orientación al ciudadano». *Pacientes.* 2004: 11-14.
- GARCÍA, F.; PALOMARES, J.; MARTÍNEZ, N.; ÁLVAREZ, M.; SUÁREZ, S.; PEREA, E.; RODRÍGUEZ, J.; HERNÁNDEZ-QUERO, J.; MAROTO, M.C.: «Study of different systems for interpreting results of genotypic test of antirretroviral drug resistance». *Ant. Therap.* 2003; 8: 251-252.
- GARCÍA, F.; AGUILERA, A.: «Pruebas de resistencia a los antirretrovirales» en *Resistencias a los antirretrovirales.* 2005. V. Soriano. Ed. Permayer. Barcelona. 2005: 35-45.
- GÓMEZ-CAPILLA, J.A.: «De Mendel a Watson y Crick. Una estrecha relación entre ciencia y medicina». Discurso ingreso en Real Academia de Medicina y Cirugía de Granada. 2004: 5-67.
- HARPER, P.S.; LIM, C.; CRAUFURD, D.: «Ten years of presymptomatic testing for Huntington's diseases: the experience of the UK Huntington's Disease Prediction Consortium». *J. Med. Genet.* 2000; 37: 567-571.
- INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM (IHGSC): «Initial sequencing of the human genome». *Nature.* 1997; 409: 860-921.

- KELLAM, P.; NARDER, B.: «Recombinant virus assay: a rapid phenotypic assay for assessment of drug susceptibility of HIV type 1 isolates». *Antim. Agentes. Chemoth.* 1994; 38: 23-30.
- MARM KILPATRICK, A.; KRAMER, L.; CAMPBELL, S.; ALLEYNE, O.; DOBSON, A.; DASZAK, P.: «West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm». *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11, 3: 425-428.
- MAROTO VELA, M.C.: «Estudio de los genotipos víricos en diferentes procesos infecciosos». *An. R. Acad. Nac. Med.* 2001, CXVIII, 2: 363-378.
- MESELSON, M.; STAHL, F.: «The replication of DNA in *Escherichia coli*». *Prac. Natl. Acad. Sci. USA.* 1958; 44: 671-682.
- SHAFFER, R.: «Genotypic testing for HIV type 1 drug resistance». *Clin. Microb. Rev.* 2002; 15: 247-277.
- TAYLOR, P.: «Demands facing today's molecular laboratory». *Mapping a course for the future. Bayer Molecular European Symposium.* Budapest. 2004.
- WENTHERALL, D.: «Genómica y salud mental». *Investigación y Ciencia.* Eidon. 2005: 33-35.

INTERVENCIONES

Prof. Suárez Fernández

Quiero felicitar a la Prof.^a Maroto porque me ha gustado mucho la conferencia. Es siempre interesante hablar de la Perfección en el diagnóstico. Es tan interesante como para pensar que están cambiando los conceptos. Por ejemplo, los postulados de Koch, que eran clave para establecer la relación de causa-efecto en una infección se están modificando. Ya no se habla del organismo que se aísla, que se cultiva, que se inocula y se reproduce en la enfermedad experimental. Hay que hablar de nivel molecular, hay que aislar los genes o las islas de patogenicidad de virulencia, y esos genes inoculados en un determinado organismo que carezca de ellos adquiere la condición de patógeno. Pero yo siempre cito el caso que ocurrió en el Congreso de Estados Unidos; en una comisión se dijo: señores estamos exigiendo el cero químico y no es posible exigirlo, porque con los métodos tan perfectos de diagnóstico, resulta que cualquier sustancia la podemos encontrar en cualquier sustrato en condición de trazas. Por lo tanto, quitaron el cero químico y pusieron el cero biológico, porque esas trazas no tienen efecto biológico, son en dosis tan pequeñas que no causan efecto alguno.

La biología molecular nos demuestra cómo está avanzando el diagnóstico y están cambiando concepto. Le hago una pregunta: ¿cree que estamos llegando al límite de la perfección diagnóstica con

la biología molecular, cuando dicen los físicos y astrofísicos que están llegando al límite del conocimiento en esa ciencia?

Prof. Blázquez Fernández

Me levanto para felicitarle efusivamente por un doble motivo: por haber traído un tema de actualidad de tanta importancia y de alguna forma estamos explicando ya lo que es el concepto actual de la medicina y por la brillantez que ha expuesto esas técnicas que son elegantes, que son complejas pero también son muy útiles para llevar a cabo ese desarrollo. Realmente algo importante está sucediendo en nuestras vidas, no sólo en la vida científica, sino en nuestra vida cotidiana, que está llena de datos, de dígitos, de imágenes, mucho más de lo que podemos sedimentar. En otras palabras, hay actualmente un gran desequilibrio entre lo que es la información y aquello que se sabía o que sabe que va más allá del conocimiento, que es la sabiduría. No queda tiempo para sedimentar toda esa información. Evidentemente, esto está en relación dentro de la propia ciencia con la bioinformática que muy oportunamente ha citado, de que evidentemente hay muchísimos datos. Yo, llevando las cosas a mi terreno, sacaría la insulina; hace unos años entendía los mecanismos de la insulina con una membrana de la célula diana de esta hormona donde había un receptor como una gran novedad y luego un interrogante dentro de la célula a efectos biológicos.

Actualmente nosotros necesitamos un ordenador para saber todas las proteínas que están implicadas en los mecanismos de la insulina, en otras palabras, necesitamos la bioinformática. Es una nueva disciplina que se ha incorporado al quehacer científico, de tal forma que no sólo es la bioinformática, sino también la bioética. Tanta información nos ha desequilibrado terriblemente y estamos en la frontera del conocimiento y de nuestras dudas éticas acerca de determinados fenómenos. Yo creo que hay un tercer punto que es muy importante y es que tenemos muchos datos, la medicina avanza y tiene que avanzar más en equipo, pero evidentemente no se trata de olvidar lo que ya sabemos, porque sigue siendo la columna vertebral de la medicina, la medicina interna, la cirugía, sus especialidades. Tan sólo esto es un conjunto de técnicas que enriquecen unos conceptos y se necesitan nuevas filosofías para ordenar, sedimentar

y metabolizar estos conocimientos, y que la medicina y los médicos estén de enhorabuena.

Prof. Portugal Álvarez

Como nos pronosticó aquí hace un momento el Prof. Piédrola, se nos ha presentado todo un conjunto fascinante de pruebas diagnósticas que evidentemente tienen una elegancia técnica. A mí lo que verdaderamente me ha parecido elegante ha sido la manera cómo la Prof.^a Maroto ha presentado su comunicación; por lo tanto, le felicito sinceramente.

Prof. Domínguez Carmona

Enhorabuena, Prof.^a Maroto, por esta magnífica lección. La enjundia de la conferencia que hemos escuchado esta tarde es extraordinaria, es decir, la cantidad enorme de sugerencias. Los microorganismos que hemos estudiado como agentes etiológicos son los portadores, los caballos de Troya de los auténticos agentes que nos van a producir la patología, que es lo que nos interesa. Los agentes de infecciosidad, de virulencia son cada vez más conocidos y los auténticos enemigos. En muchas enfermedades ya no habrá que tratar la bacteria, tal vez no haya que emplear los antibióticos, sino que habrá que emplear sustancias antitóxicas, y pongo por ejemplo el tema del carbunco provocado, en el cual el tratamiento cuando ya se ha tardado en poder destruir la bacteria, antes de que haya segregado sus sustancias tóxicas, no va a servir para nada.

Es un concepto nuevo no sólo en el tema de la microbiología, sino en el tema de la concepción general de lo que es la patología. ¿Cómo podríamos traducir la palabra microarray?

Prof. Casado de Frías

Yo me quiero sumar a las felicitaciones que se han producido a la Prof.^a Maroto porque me ha parecido una conferencia espléndida porque nos ha llevado a todos de la mano hacia la ventana de lo que es el futuro de la medicina. Yo estoy convencido de que en

el plazo de muy pocos años el cambio que se va a producir en la medicina es muy parecido a lo que sucedió con las bacterias, las vacunas, los antibióticos, la anestesia, la asepsia y la cirugía. Yo creo que el cambio es la biología molecular. Es algo fantástico lo que se va a producir, lo que se está produciendo ya en este momento. Me ha sugerido infinidad de cosas. En el momento actual yo estaba pensando por ejemplo en la obesidad, un tema muy de moda y que todo el mundo cree saber y conocer a fondo; cuando la biología molecular se está introduciendo en el terreno de la obesidad los obesos ya no son una única entidad, los obesos son una serie de procesos génicos con una frecuencia extrema. Las alteraciones de la propia *melanocortina*, mejor dicho, de los genes que la codifican, la de la melatonina y los estimulantes de la melanina, las alteraciones de sus receptores; todo esto tiene una fundamentación génica que yo espero que en un futuro inmediato, ya se está produciendo, nos puedan dar el diagnóstico quienes trabajen en el terreno de la biología molecular y que nos digan que el enfermo obeso es un enfermo que tiene un defecto en el receptor 4 de la estimulante de la melanina, o que tiene un defecto en el receptor de la leptina. Eso nos lo van a decir pronto y la terapéutica no va a ser lo que estamos haciendo en este momento de controlar la dieta, de estimular el ejercicio, de cambiar los modos de vida, seguramente que también, pero nos van a decir otras posibilidades y a buen seguro que van a ser mucho más eficaces que han sido las cosas hasta el momento presente.

Ha estado hablando de la fibrosis quística, este capítulo no pasa por los trasplantes de pulmón, yo creo que eso va a pasar por los avances de la biología molecular, y como eso infinidad de situaciones patológicas. Yo le agradezco por ello el que nos haya abierto una ventana a la biología molecular porque creo que el futuro de la medicina es éste, sin olvidar por supuesto que detrás de la biología molecular, detrás del obeso y detrás de la fibrosis quística tenemos un enfermo, una persona con cuerpo, alma y sentimiento, esto no se puede olvidar nunca. Pero para hacer estas terapéuticas individualizadas, esas formas de tratamiento específicas para cada uno, sólo las podremos hacer si la biología molecular continúa andando a través del estudio del genoma en todo detalle. Muchas gracias por su presentación.

CONTESTACIÓN DE LA PROF. MAROTO VELA

Al Prof. Suárez Fernández

Estoy totalmente de acuerdo en el cambio existente en el momento actual en relación a los diagnósticos en general, y en el de los Microbiológicos en particular. Realmente hoy en día muchas veces nos aporta poco el aislar un microorganismo en una determinada muestra patológica, siendo necesario comprobar sus diversas características de tipo molecular para poder identificarlo de forma correcta y, además, como he dicho en la comunicación, para poder estudiar los aspectos epidemiológicos. En relación a su pregunta sobre si hemos llegado al límite de la perfección diagnóstica, debo contestarle que no. Hemos avanzado mucho, pero todavía nos quedan muchos aspectos oscuros, muchos problemas por resolver, standarizar de forma clara muchas de las técnicas para obtener resultados más fiables y, sobre todo, establecer en muchos casos algoritmos de interpretación diagnóstica.

No obstante, debemos sentirnos orgullosos de lo conseguido y esperanzados ante el futuro.

Al Prof. Blázquez Fernández

Realmente, nuestro compañero Académico no ha podido definir y explicar mejor los avances registrados en el campo médico, haciendo hincapié en la necesidad de la bioinformática. En el campo de la investigación, no sólo es necesario, tal y como él dice en su ejemplo de la insulina, sino que todo ese conocimiento se ha visto trasladado al espacio de la Medicina diaria. Actualmente en nuestros Laboratorios hospitalarios no trabajamos si no es con ordenadores que nos sintetizan los resultados de las técnicas más complejas. Pero, como él muy bien dice, estas técnicas enriquecen nuestros diagnósticos, pero nunca nos deben hacer olvidar el juicio clínico y el estudio detenido del enfermo.

Prof. Portugal Álvarez

Debo simplemente agradecerle sus palabras de felicitación. El hecho de que dichas palabras hayan sido emitidas por una persona

como el Prof. Portugal, hacen que me sienta profundamente satisfecha de su amistad, y de su «elegancia» en la forma de expresarse ante mi comunicación.

Al Prof. Domínguez Carmona

El Prof. Domínguez Carmona, buen microbiólogo y mejor especialista en Medicina Preventiva, sabe mucho de microorganismos y los problemas que nos causan. Tal y como él dice, es probable que en un futuro próximo emplearemos con mayor frecuencia determinadas sustancias antitóxicas. Pero yo creo que lo más importante en todos estos avances no es el pensar si vamos a utilizar antibióticos o no, sino el tratar de hacer una terapia a la medida del enfermo y del agente etiológico, la «taylor therapy», sea cual sea esa terapia.

Indudablemente la palabra microarray no es una palabra española, pero como tantos otros conceptos, han sido asumidos por la comunidad científica internacional, y que yo sepa, hasta ahora no ha sido sustituido. Igual nos ocurrió con el concepto de microchip o, simplemente, el de chip.

Al Prof. Casado de Frías

El tema planteado por el Prof. Casado en relación a la posibilidad de clasificación y estudio del enfermo obeso según los aspectos genéticos, el estudio de receptores, etc., es evidentemente uno de los muchos que la Biología Molecular nos va a poder ir solucionando a lo largo del tiempo. Ya he citado algunos otros ejemplos en la comunicación, pero van a existir muchos más a medida que sepamos manejar mejor las diferentes técnicas. Y, aunque resulte iterativo el decirlo, no nos va a servir sólo para hacer mejores diagnósticos, sino terapias más reales y más ajustadas al propio proceso biológico.

Quizá por eso, los que trabajamos en investigación y en los laboratorios necesitamos la participación completa de los clínicos, siendo su colaboración totalmente imprescindible para llegar a hacer una Medicina más moderna, más efectiva y más adecuada a un enfermo determinado. Es decir, una Medicina más individualizada.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Una vez más felicitar a los dos conferenciantes de hoy, el Prof. Piédrola Angulo y la Prof.^a Maroto Vela. Creo que debo aprender especiales palabras para felicitar cariñosamente a los conferenciantes que cada día presentan ponencias de mayor interés y más excelentes. Sé el esfuerzo y el trabajo que supone adquirir todos estos conocimientos y es encomiable la labor que realizáis, y creo que debemos de seguir en ese sentido.

