

INSTITUTO DE ESPAÑA

The emblem is a circular crest featuring a laurel wreath. Inside the wreath, a large, ornate horn of plenty (cornucopia) is depicted, overflowing with rays of light. Below the horn, there is a small altar or pedestal with a flame. The crest is flanked by two small figures. Above the crest, a ribbon banner contains the Latin motto: *Major Collectis Viribus exiit*.

ANALES

REAL ACADEMIA NACIONAL

DE MEDICINA

AÑO 2011 - TOMO CXXVIII

CUADERNO TERCERO

ANALES
DE LA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

AÑO 2011 - TOMO CXXVIII

CUADERNO TERCERO

SESIONES CIENTÍFICAS



Edita: REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

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

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

XIII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 17 DE MAYO DE 2011

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA

EFFECTO DEL PRETRATAMIENTO CON MELATONINA EN LA LESIÓN OXIDATIVA, E INFLAMATORIA CAUSADA POR ISQUEMIA/REPERCUSIÓN HEPÁTICA EN RATAS ZUCKER

EFFECT OF PRETREATMENT WITH MELATONIN ON THE OXIDATIVE AND INFLAMMATORY DAMAGE INDUCED BY HEPATIC ISCHEMIA/REPERFUSION IN ZUCKER RATS

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

Académico de Número

Resumen

El factor limitante de la viabilidad de los trasplantes hepáticos es la lesión de isquemia reperfusión donde el daño oxidativo generado por la reanudación del aporte de sangre juega un papel fundamental. La melatonina es una sustancia que ha demostrado poseer efectos protectores de daño oxidativo. Se pretende demostrar que la administración de melatonina intraperitoneal y oral antes y durante la isquemia reperfusión hepática experimental en ratas Wistar jóvenes y viejas y en Zucker, puede reducir el daño generado por estrés oxidativo y la inflamación, responsable de la pobre función inicial post isquemia de los hígados viejos y esteatósicos. Se ha analizado en

* Con la colaboración de: Roman Kireev, Sara Cuesta, Samuel Bitoun, Elena Vara, Pilar Conde, Carolina Ibarrola y Enrique Moreno.

todos los casos la expresión de mRNA de citoquinas, y de marcadores de estrés oxidativo y apoptosis en tejido hepático. Además, se midieron las transaminasas plasmáticas. Los resultados muestran que tanto transaminasas como citoquinas e indicadores de estrés oxidativo y marcadores proapoptóticos presentan un incremento significativo con la isquemia que es más evidente en ratas viejas o Zucker y que se atenúa marcadamente con los tratamientos con melatonina, siendo el tratamiento oral el mas efectivo. La melatonina es capaz, por lo tanto, de reducir el daño hepático tras isquemia reperusión, siendo el efecto mas importante en animales viejos y Zucker.

Abstract

The limiting factor of the viability of hepatic transplants has been the ischemia reperfusion damage where oxidative stress induced lesion after reperfusion plays a fundamental role. Melatonin is a substance that has demonstrated protective effects against oxidative stress. The aim of the present study is to demonstrate that the intraperitoneal or oral administration of melatonin before and during experimental hepatic ischemia reperfusion in young and old Wistar and Zucker rats could reduce the oxidative stress and inflammation induced lesion, responsible of the poor initial function after ischemia in the old or steatotic livers. The mRNA expression in hepatic tissue of cytokines, markers of oxidative stress and apoptosis as well as plasma transaminase levels were analyzed. Results showed an increase in both plasma transaminase as well as cytokines or oxidative stress and proapoptotic parameters. The elevation was higher in old and Zucker rats. Treatment with melatonin significantly reduced hepatic damage, being oral administration more effective. In conclusion melatonin was able to reduce liver damage after ischemia reperfusion being the effect more important in old and Zucker animals.

INTRODUCCIÓN

El trasplante hepático (TH) proporciona actualmente una espectacular mejoría en la supervivencia y calidad de vida de los pacientes con enfermedad hepática en estadio terminal (Matesanz y Miranda 2003). El Consejo de Europa ha estimado que se requieren 50 donantes p.m.p. para satisfacer las necesidades clínicas (Committee of Experts 1996). En España, país con mayor tasa de donación en el mundo —33,8 donantes cadáveres p.m.p. en el año 2004— los recursos no son suficientes para atender la demanda: la mortalidad en lista de espera es de un 12 % (Miranda *et al.* 2003) y un 5-10 % de pacientes tienen que ser dados de baja de la lista por empeoramiento progresivo, gravedad extrema y muy baja probabilidad de sobrevivir al trasplante (Mata *et al.* 2004).

La acuciante escasez en la disponibilidad de órganos para TH ha impulsado la tendencia a aceptar órganos de inferior calidad, denominados subóptimos, marginales o con criterios expandidos, entre los que destacan de manera prioritaria los subóptimos predeterminados que incluyen los hígados esteatósicos y los hígados de donantes de edad avanzada.

La esteatosis hepática o hígado graso es un problema frecuente que se observa en el 25% de los donantes (Selzner & Clavien 2001, Koneru *et al.* 1995, Marsman *et al.* 1996) y es el factor de riesgo más común de fracaso hepático postoperatorio. Los hígados con esteatosis «severa» se descartan para el trasplante, ya que se produce «no función primaria del injerto» en un número elevado de casos (García Ureña *et al.* 1998). Los hígados con esteatosis «moderada» se consideran «marginales aceptables», pero los pacientes tienen una supervivencia a los dos años del TH del 77% en comparación con el 91% de supervivencia en pacientes que reciben hígados no esteatósicos (Hayashi *et al.* 1993) y la supervivencia del injerto más baja (76% vs. 89%) a los 4 meses postrasplante (Marsman *et al.* 1996).

Los donantes de hígados esteatósicos proceden con mayor probabilidad de donantes «viejos» y la asociación de ambos factores incrementa la incidencia de «no función primaria del injerto» y de «pobre función inicial del injerto» y reduce la supervivencia del paciente y del injerto (Selzner & Clavien 2001, Verran *et al.* 2003).

En la era actual de preservación fría de los órganos para trasplante, el factor limitante de la viabilidad de los injertos es la lesión de isquemia-reperfusión, cuestión de creciente importancia ya que la calidad de los donantes va siendo cada vez mas baja.

En las lesiones de isquemia-reperfusión, el daño oxidativo juega un papel fundamental. Se sabe que tras un periodo de isquemia al reperfundir de nuevo aparece un incremento de la tasa de producción de ROS, que es responsable del daño oxidativo secundario a lípidos, proteínas y DNA (Harman, 1992; Beckman y Ames, 1998; Hamilton y cols., 2001; Sohal y cols., 2002; Troen, 2003).

Para anular los efectos tóxicos derivados del metabolismo del oxígeno, los seres vivos disponen de un complejo sistema de defensa antioxidante, que incluye enzimas, como la superóxido dismutasa, peroxidasas y catalasa, y también moléculas antioxidantes como el glutathione y algunas vitaminas.

En este contexto de sustancias protectoras de daño oxidativo, investigaciones recientes incluyen a la melatonina (Reiter 1995, Tan

et al. 1993, Garcia *et al.* 1997, Castillo *et al.* 2005 a,b, Kireev *et al.* 2007 a,b). La N-acetil-5-metoxi-triptamina o melatonina es un producto sintetizado en la glándula pineal derivado del triptófano. Otros tejidos también sintetizan melatonina, destacando, por su tasa de producción, la retina, el hipotálamo y el tracto gastrointestinal.

En 1993, el grupo dirigido por el profesor R.J. Reiter en la Universidad de Texas describió la actividad antioxidante de la melatonina en un sistema *in vitro* generador de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) (Tan *et al.* 1993). Un año después, C. Pieri y col. (1994) demostraron su eficiencia frente a radicales peroxilo ($\text{LOO}\bullet$). Ambos efectos pueden explicarse porque la melatonina cede un electrón al radical libre transformándose en un nuevo radical indólico de toxicidad muy escasa.

También se han reseñado otros efectos antioxidantes indirectos de la melatonina, potenciando la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. Recientemente se han aportado evidencias de la eficacia de melatonina reduciendo el daño oxidativo en modelos de isquemia-reperfusión hepática, en los que se generan ingentes cantidades de radicales libres especialmente en la mitocondria (Sewerinek *et al.* 1996, Okatani *et al.* 2003). E incluso se han demostrado efectos protectores de melatonina en la preservación de tejidos cardíaco, hepático y pulmonar (Inci *et al.* 2002, Gao *et al.* 2003, Vairetti *et al.* 2005 Kireev *et al.* 2008, 2010)

En el estudios previos, la liberación de NO al medio por parte de los hepatocitos aumenta tras la isquemia reperfusion, Estos resultados concuerdan con otros presentes en la literatura, que demuestran que la actividad de la iNOS, enzima inducida en estados proinflamatorios y que produce grandes cantidades de NO, aumenta también con la isquemia reperfluación en el hígado y otros tejidos (Cernadas y cols., 1998; Chung y cols., 2002; Law y cols., 2002).

Hasta el momento actual, no se ha probado el uso de melatonina en trasplante de órganos. Sin embargo, las mencionadas acciones de la melatonina sugieren fuertemente que puede ser de gran eficacia en el trasplante hepático, previniendo las lesiones de isquemia-reperfusión por la vía del daño oxidativo y reduciendo la muerte celular por apoptosis y necrosis.

Nuestro planteamiento es que la administración de melatonina en el animal antes de ser sometido a isquemia puede ser una importante alternativa de precondicionamiento del hígado y puede contribuir a disminuir las lesiones que suelen aparecer en los injertos hepáticos subóptimos, hígados esteatósicos e «hígados viejos».

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Como objetivo fundamental, se pretende demostrar que la administración de melatonina antes de la isquemia reperusión en el animal, durante la misma y hasta dos días del postoperatorio en rata Wistar joven o vieja y en Zucker con esteatosis hepática, puede reducir el daño generado por estrés oxidativo tras la isquemia reperusión del hígado esteatósico, que es responsable de la «no función primaria» o «la pobre función inicial» post isquemia de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

MODELO EXPERIMENTAL. ANIMALES

Ratas Wistar macho de 2 y de 14 meses. Ratas Fatty Zucker fa/fa con hígado esteatósico, de 8 semanas, con un peso de 400 ± 40 g.

Anestesia. Se ha utilizado la inhalatoria con Isoflurano (Forane®) combinado con O₂, aplicado en mascarilla, con aparato de anestesia especial para animales pequeños (Isotec-5, Dates-Ohmeda). Dosis: O₂ a 2,5 L, combinado con isoflurano entre 2 y 3% v/v.

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

La ligadura del pedículo vascular del hígado en la rata determina la isquemia de las $\frac{3}{4}$ partes del mismo, con afectación de los lóbulos medial y lateral izquierdo manteniéndose la perfusión del Cuadrado, lateral derecho, papilar y caudado.

La ligadura se mantiene durante 35 minutos pasados los cuales se corta la misma reinstaurándose la perfusión.

La isquemia se comprueba por un cambio de color inmediato del hígado que vira a negro durante la isquemia y retorna al marrón al reperfundir, salvo de los lóbulos no afectados que son extirpados tras la reperusión.

GRUPOS EXPERIMENTALES

El estudio se ha llevado a cabo realizando el proceso de isquemia reperusión de hígado en 30 ratas Wistar jóvenes de 3 meses y en otras

30 de 14 meses. Además, en el hígado esteatósico en un total de 40 ratas Zucker de 4 meses de edad con un peso medio de 400 g.

En las ratas Wistar se han hecho 6 grupos experimentales. Tres con ratas jóvenes y tres con ratas viejas. En cada caso 10 animales se someten a isquemia simulada y las 20 que quedan se someten a isquemia real durante 35 minutos. De éstos la mitad no tendrán ningún tratamiento y la otra mitad recibirán melatonina 10 mg / Kg ip comenzando 12 horas antes de la intervención en inyecciones cada 8 horas hasta 36 horas tras la cirugía. También hay 4 grupos experimentales de ratas Zucker de 10 animales cada uno. En el grupo 1 se simulará la isquemia simplemente realizando una laparotomía y cerrando después como en las anteriores. En el grupo 2 se realizará la isquemia durante 35 minutos seguida de reperusión. En el grupo 3 y 4 se realizará asimismo la isquemia pero tras un pretratamiento por vía intraperitoneal o por vía oral con 10 mg/Kg/de melatonina. Los tratamientos se administrarán al animal 12 horas previas a la operación quirúrgica: En la administración intraperitoneal, se inyectará en los momentos previos a la intervención y después cada 8 horas durante 36 horas.

En la administración oral en el agua de bebida, el tratamiento comenzará igualmente desde 12 h antes de la intervención, hasta el sacrificio del animal.

TOMA DE MUESTRAS DE TEJIDO HEPÁTICO

Se tomarán muestras en de tejido hepático tras el sacrificio de los animales a las 36 h de la operación.

ESTUDIOS A REALIZAR

- A. Bioquímica sanguínea. Se determinarán en suero LDH, AST y ALT.**
- B. Estudios del daño oxidativo. Las técnicas que se utilizarán en este proyecto para valorar el daño oxidativo incluyen.**

1. Cuantificación del MDA+4-HDA

Las concentraciones de MDA+4-HDA son un indicador del grado de peroxidación de los lípidos de las membranas. Se determinan

en homogeneizados de los tejidos extraídos por un método colorimétrico (Escames y col 1997). Las concentraciones de MDA+4-HDA se han corregido por las concentraciones de proteínas. Se ha utilizado el protocolo de Bradford para la cuantificación de las proteínas (Bradford, 1976). Las concentraciones finales de MDA+4-HDA se expresan en nmol MDA+4-HDA/mg proteína.

2. *Estudio de transcripción del RNA*

La obtención de mitocondrias del injerto hepático se ha llevado a cabo siguiendo los métodos convencionales pero utilizando una centrífuga eppendorf que acorta mucho los tiempos.

Extracción, fraccionamiento y análisis del RNA

Las mitocondrias se lisan en presencia de SDS y de pronasa y los ácidos nucleicos, después de dos extracciones consecutivas con phenol, se recogen por precipitación con etanol. El análisis electroforético en geles de agarosa-metil mercurio se realiza como se ha descrito previamente. Los RNA se visualizan por autorradiografía y la cuantificación de los autorradiogramas se realiza con un densitómetro laser con el software correspondiente.

Se estudia asimismo la inflamación generada por el estrés oxidativo midiendo TNF alfa, IL1 beta, IL6 IL 10 NFkB.

Se estudiará el proceso de apoptosis mediante la medida de proteínas pro y antiapoptóticas. BCL2 Bad,Bax. AIF, etc.

C. **Estudios de anatomía patológica**

— Microscopía óptica. Las muestras de tejido hepático se fijan inmediatamente tras su laminación en formaldehído tamponado al 10% durante un período de 24 horas, tras el que se procesan de forma rutinaria en parafina. Se realizan secciones de 3 micras, que se tiñen con técnica de Hematoxilina-Eosina, para su estudio óptico convencional. La esteatosis se gradúa semicuantitativamente, utilizando recuento porcentual y localización de la misma en el acino hepático (zonas 1, 2 o 3).

RESULTADOS

El proceso de isquemia se puede comprobar visualmente por el color negro que aparece en el hígado tras la ligadura tal y como

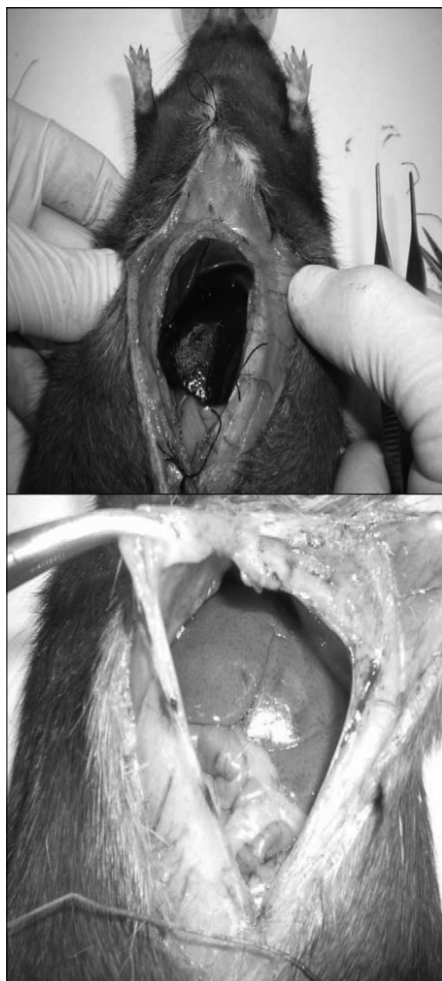


FIG. 1: Efecto macroscópico de la isquemia inducida en el hígado (arriba) frente a un hígado normal en ratas Zucker.

puede verse en la figura 1. Una vez restablecida la circulación el hígado vuelve a su color original. En ese momento se extirpan los lóbulos que no habían sido sometidos a isquemia.

La sangre extraída a las 36 horas de la isquemia se utilizó para la medida de transaminasas AST y ALT. Puede observarse un incremento altamente significativo en ambas transaminasas tras la isquemia. En los animales sometidos a tratamiento con melatonina tanto inyectada ip, como administrada en el agua de bebida puede verse una disminución estadísticamente significativa. El efecto es más evidente tras la administración oral de la melatonina (tabla 1).

TABLA 1
Niveles de enzimas hepáticas como marcadores de daño en el proceso de la isquemia y efecto de la melatonina en machos (ratas Zucker)

<i>U/L</i>	<i>Sham</i>	<i>Isquemia</i>	<i>Mel inyectada</i>	<i>Mel bebida</i>
<i>AST</i>	190.8±45.26	866±354.04	596±147.49	379.12±118.19
<i>ALT</i>	75.1±14.42	366±94.34	282±72.37	200.5±82.22

Se ha hecho un estudio histológico de los hígados observándose micro y macro esteatosis (figs. 2 y 3). El análisis pormenorizado del

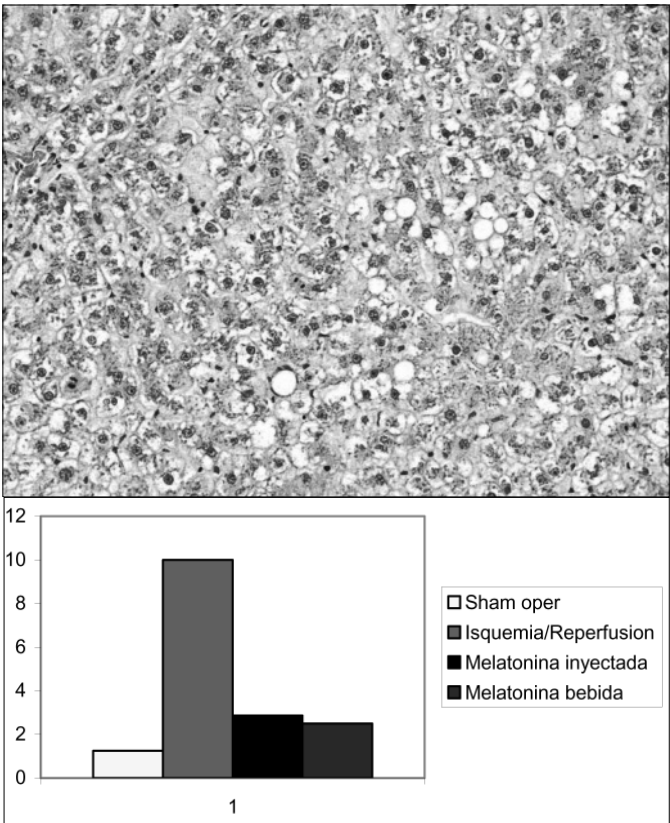


FIG. 2: Efecto de la melatonina sobre la macroesteatosis del hígado en ratas Zucker después de la isquemia/reperfusión.

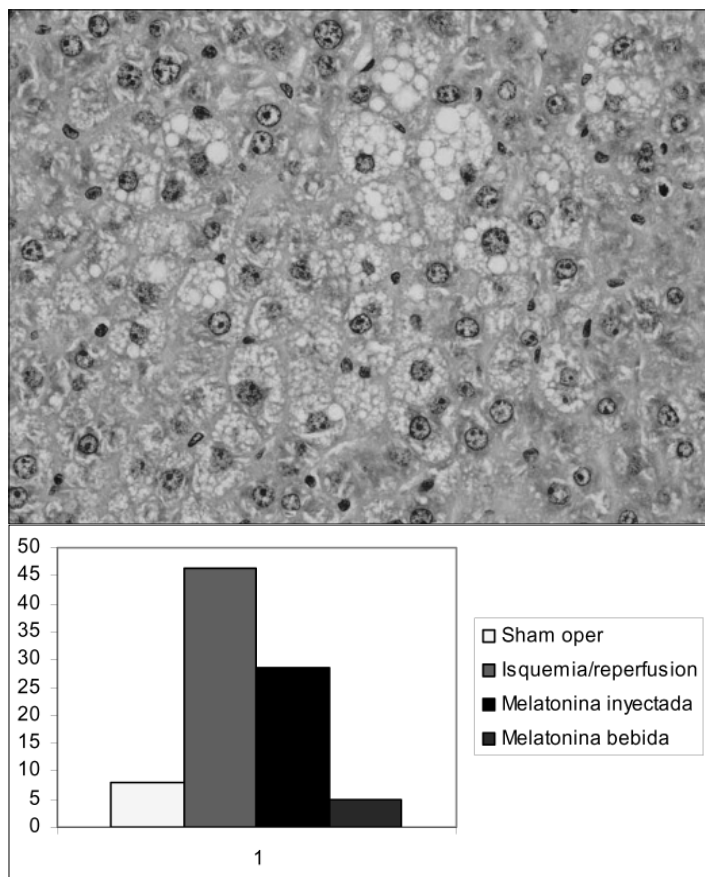


FIG. 3: Efecto de la melatonina sobre la microesteatosis del hígado en ratas Zucker después de la isquemia/reperfusión.

número de áreas de micro o macroesteatosis en cada uno de los distintos tipos de situación experimental arroja los siguientes resultados:

Cuantificadas las áreas correspondientes, se puede observar un incremento de ambas tras la isquemia que se reduce significativamente tras la administración de melatonina.

Además, pueden verse zonas de infarto en los hígados postisquemia (fig. 4).

Estas zonas de infarto no aparecen lógicamente en los animales sometidos a operación simulada y son menores en las tratadas con melatonina.

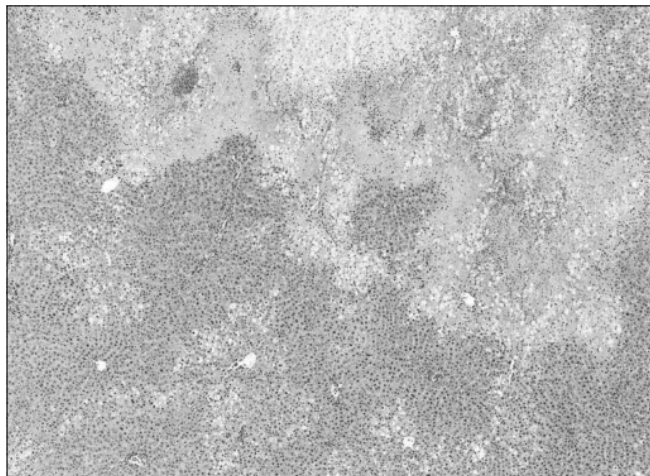


FIG. 4: Zonas de infarto en hígado post ischemia.

Análisis de la expresión de genes relacionados con la inflamación y niveles de citoquinas anti/pro inflamatorias en el hígado de ratas Zucker sometidos a ischemia y efecto del tratamiento con melatonina inyectada y bebida

Se ha analizado la expresión de mRNA de citoquinas tanto en los hígados de las ratas Zucker sometidas a ischemia sin tratamiento como a las sham operadas y en las tratadas observándose los siguientes resultados: Tanto los niveles de interferón (fig. 5A) como los de monocítico quimioatrayente (MCP1) siguen un patrón parecido al que puede verse para TNF alfa de la figura 5B y los de IL 1 en la figura 6A. Presentan un incremento significativo con la ischemia que se atenúa marcadamente con los tratamientos, siendo de nuevo el tratamiento oral el más efectivo. Lo mismo ocurre con NFkB1 y 2 (fig. 6B).

Por el contrario, en el caso de citoquinas antiinflamatorias como IL 10 no hay efectos significativos,

En la tabla 2 pueden verse los niveles de las diversas citoquinas medidas mediante ELISA en el hígado tanto tras la ischemia sin tratamiento o sham operación como tras los tratamientos con melatonina tanto ip como oral. Salvo para IL4 e IL10 que son antiinflamatorias y que sufren una disminución tras la ischemia, que revierte en parte al menos por los tratamientos con melatonina, el resto

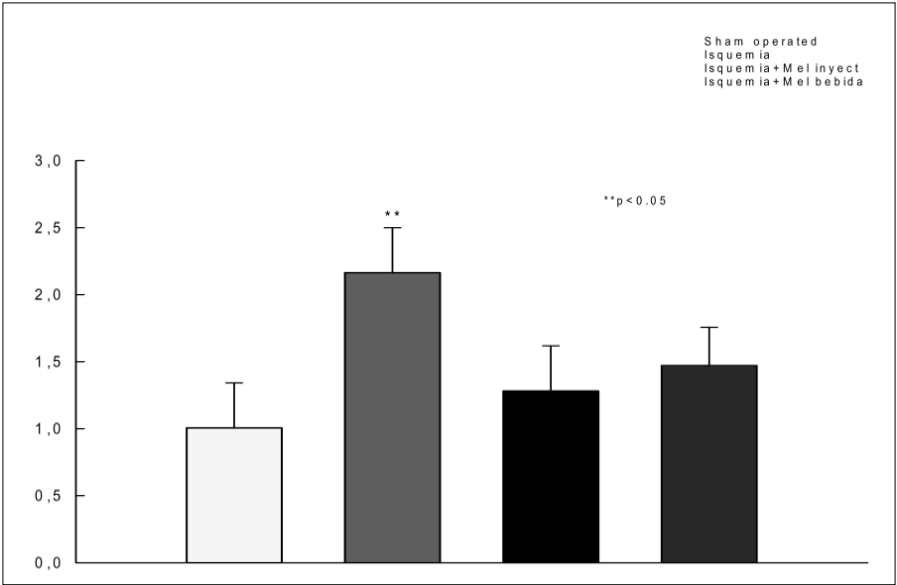


FIG. 5A: Expresión del mRNA de IFN en el hígado de ratas Zucker.

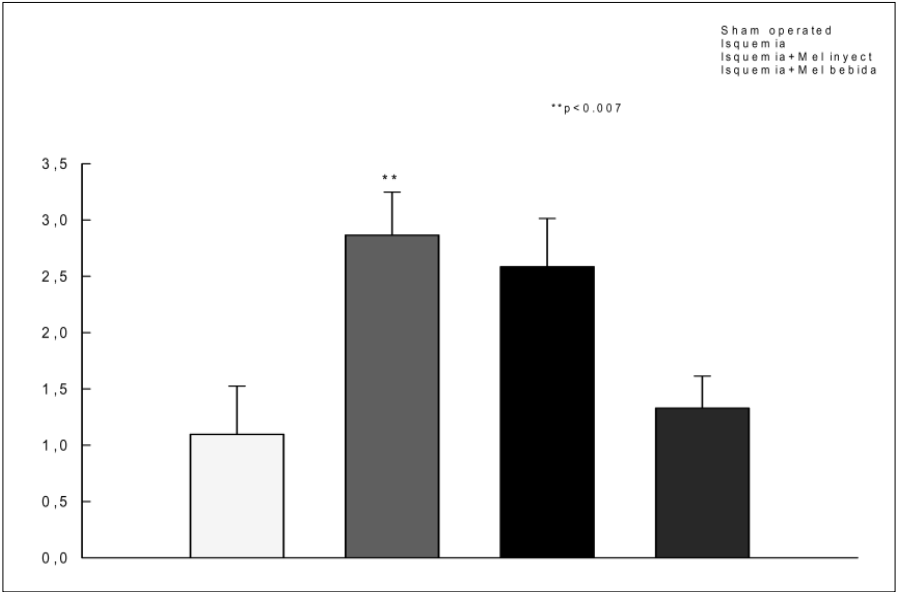


FIG. 5B: Expresión del mRNA de TNF alfa en el hígado de ratas Zucker.

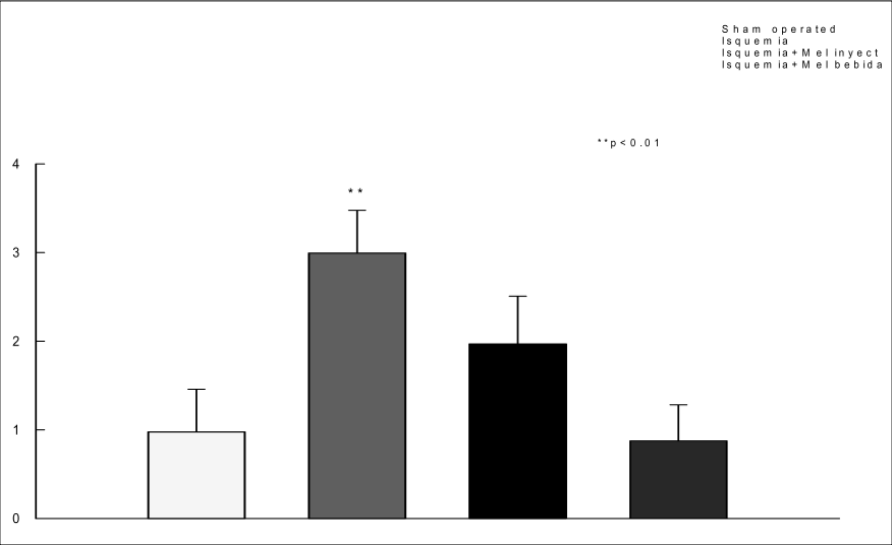


FIG. 6A: Expresión del mRNA de IL-1 beta en el hígado de ratas Zucker.

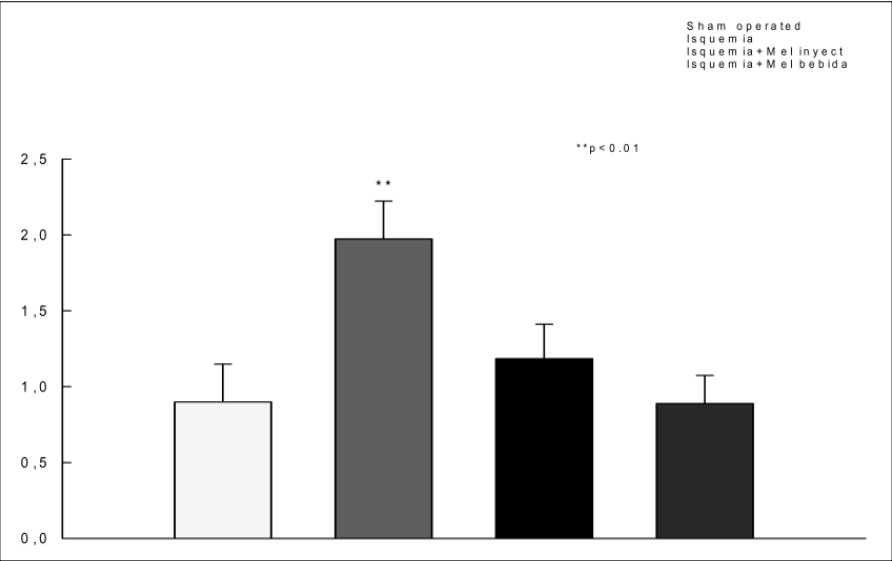


FIG. 6B: Expresión del mRNA de NFkB-1 en el hígado de ratas Zucker.

TABLA 2
Niveles de citoquinas pro/anti inflamatorias en hígado de ratas Zucker y efecto de la melatonina inyectada y bebida.

<i>Citoquinas pg/mg de proteínas</i>	<i>Sham oper</i>	<i>Isquemia</i>	<i>Mel inyec</i>	<i>Mel oral</i>
TNF alfa	2758,62±176,29	3520,18±135,56 ▲	3119,73±245,07	2458,56±182,76 **
IL 1 beta	605,26±45,73	722,52±28,76 ▼	559,54±68,76 *	428,73±51,42 **
IL 6	1218,44±136,35	1252,49±128,58	846,36±68,73 **	780,41±72,94 **
IL 2	81,77±5,76	81,33±7,04	62,88±9,32 *	48,54±7,83 **
IL 17	52,56±4,83	68,96±6,92 ▲	51,35±3,87 *	41,31±6,35 **
IL 4	560,28±23,65	378,49±31,72 ▲	421,19±25,51	438,61±32,76
IL 10	1557,65±125,65	1074,37±89,53 ▲	1418,88±101,65 **	1503,86±115,62 **
IL 13	354,23±27,91	224,99±18,54 ▼	237,83±24,68	227,29±22,04

de las citoquinas se incrementan con la isquemia y disminuye marcadamente con los tratamientos con melatonina. En todos los casos la melatonina oral es mejor que la inyectada.

Medida de la expresión de genes y actividades enzimáticas relacionadas con estrés oxidativo

De igual forma se han medido los parámetros relacionados con el estrés oxidativo. En la figura 7A puede verse la hemoxigenasa 1 (HO1)

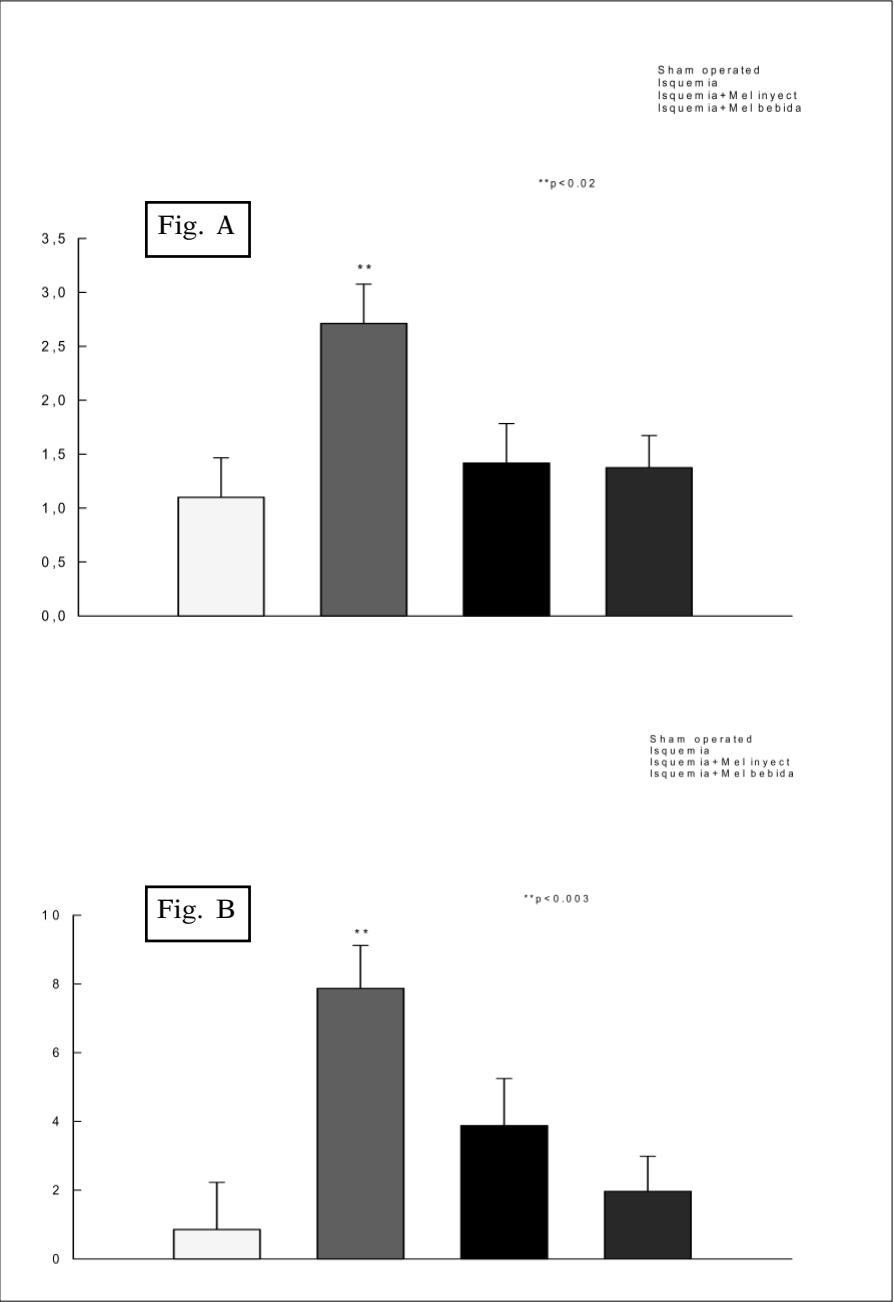


FIG. 7A: Expresión del mRNA de HO-1 en el hígado de ratas Zucker.
FIG. 7B: Expresión del mRNA de iNOS en el hígado de ratas Zucker.

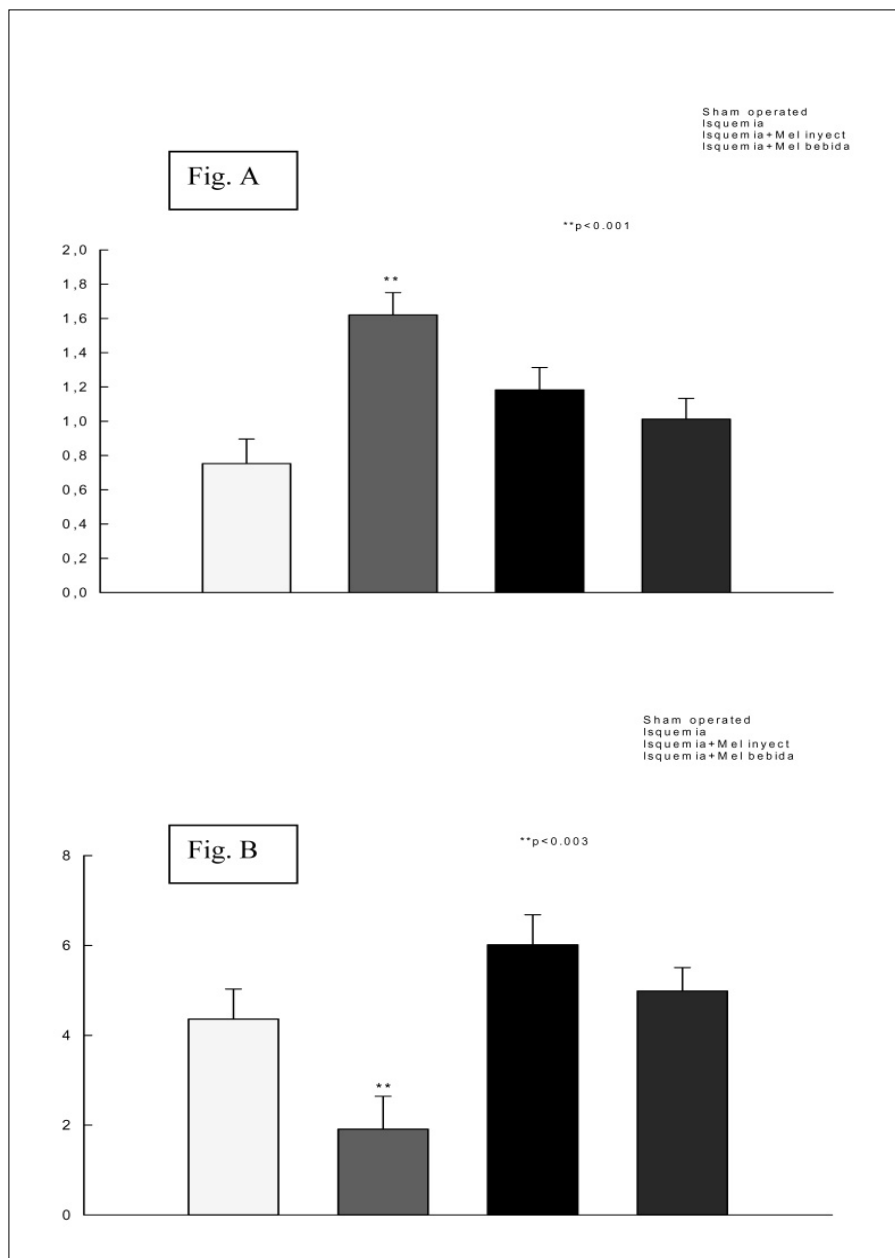


FIG. 8A: Niveles de metabolitos NOx en homogenado hepático de ratas Zucker durante la isquemia y efecto de los diferentes tratamientos con melatonina. FIG. 8B: Actividad de Glutathion peroxidasa (GPx) en homogenado hepático de ratas Zucker durante la isquemia y efecto de los diferentes tratamientos con melatonina.

de igual forma que en la NO sintasa inducible (fig. 7B) así como los metabolitos de NO (fig. 8A) y la glutatión peroxidasa (fig. 8B) que siguen un patrón especular al de las citoquinas, con disminución tras la isquemia y recuperación con los tratamientos.

Expresión de genes relacionados con los procesos de apoptosis y proliferación celular en hígado de ratas Zucker y efecto del tratamiento con melatonina inyectada y bebida

Se han medido la expresión de mRNA de las proteínas que a nivel hepático juegan un papel importante en la inducción de apoptosis como es el caso de BAD y BAX (figs. 9A,B y 10) y también de las que evitan la aparición de apoptosis como es el caso de BCL2. Se puede observar un incremento de las proapoptóticas con la isquemia y en nuestro caso una ausencia de alteración de la antiapoptótica. El tratamiento con melatonina disminuye las proapoptóticas y no modifica tampoco la anti. En cualquier caso, si consideramos la relación pro/anti ésta se incrementa de forma marcada con la isquemia y disminuye con el tratamiento

DISCUSIÓN

La lesión que se genera por la isquemia reperusión es bastante compleja. Normalmente comienza con la activación de las células de Kupfer que a su vez inician la producción de radicales libres que o bien generan daño directamente o bien activan a su vez a otros mediadores proinflamatorios como NFkB que desencadena la liberación de interleuquinas y TNFalfa. Se generan otros mediadores que son los responsables del daño hepático secundario (Lentsch, *et al.* 1999; Colletti *et al.* 1990; Jaeschke *et al.* 1993; Lentsch *et al.* 1998); En nuestro estudio hemos podido constatar el incremento de citoquinas proinflamatorias tras los 35 minutos de isquemia y las 36 horas de reperusión correlacionándose positivamente con un incremento de las transaminasas AST y ALT (Zúñiga *et al.* 2010) de acuerdo con los hallazgos obtenidos en estudios previos. (Hsu *et al.* 2008). Nuestros datos también muestran una disminución de las citoquinas antiinflamatorias como la IL10 (Gómez *et al.* 2008), e incremento de las proinflamatorias (Lentsch *et al.* 1998); que se ha visto es capaz de neutralizar parcialmente el daño hepático tras isquemia. En nues-

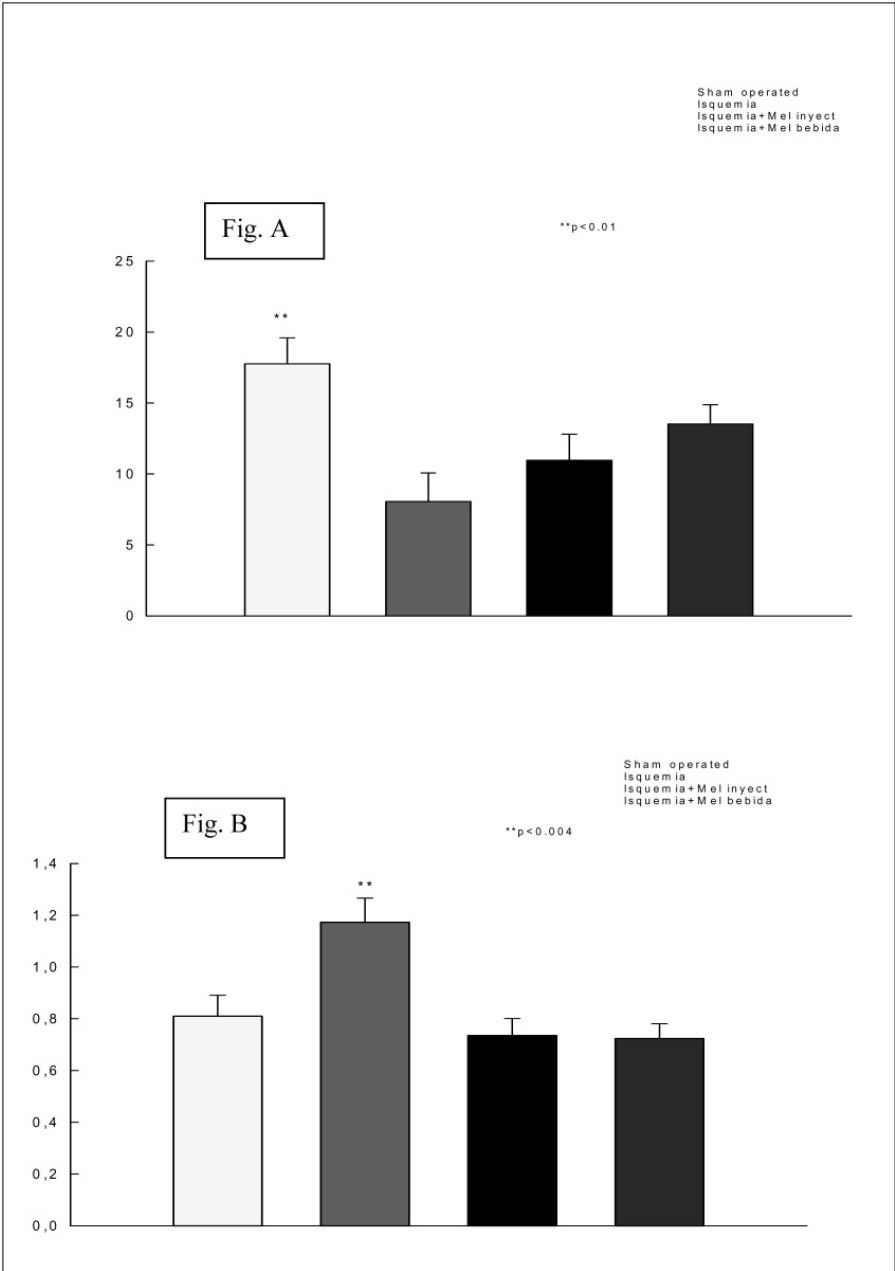


FIG. 9A: Actividad de Glutathion reductasa (GSH) en homogenado hepático de ratas Zucker durante la isquemia y efecto de los diferentes tratamientos con melatonina.
Fig. 9B: Expresión del mRNA de BAD en el hígado de ratas Zucker.

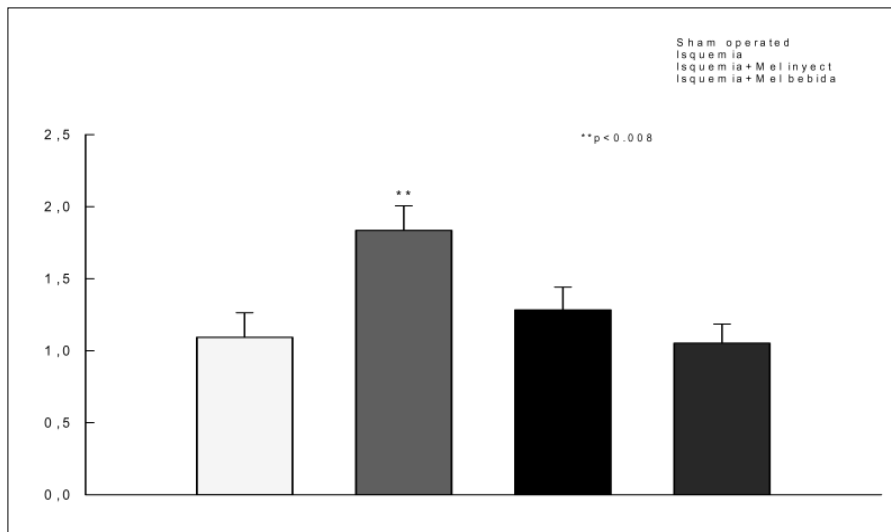


FIG. 10: Expresión del mRNA de BAX en el hígado de ratas Zucker.

tros datos la expresión de mRNA de IL1 β , MCP-1 e INF γ era más evidente en los animales mas viejos tras la I/R. Se sabe que con el envejecimiento el número y actividad de las células de Kupfer se incrementan [Moench *et al.* 2003;] y esas células liberan citoquinas pro-inflamatorias, que pueden aumentar la lesión hepática promoviendo la infiltración de neutrófilos [Hsu *et al.* 2008].

NF κ B es un factor de transcripción ubicuo, que regula la expresión de TNF alfa y de otras citoquinas proinflamatorias, y que se incrementa tras la I/R. (Bliss *et al.* 2007) La lesión hepática tras I/R disminuye si se suprime la activación de NF κ B en ratones (Park *et al.* 2007)

De igual forma se incrementa iNOS que se asocia a daño oxidativo e inflamación (Ghosh *et al.* 1998). Tanto el estrés oxidativo como la inflamación conducen a la aparición de apoptosis con la consiguiente muerte celular. En nuestro caso hemos podido comprobar como aumentan las proteínas proapoptóticas como Bad, Bax o AIF sin que varíen las antiapoptóticas como BCL2.

La melatonina es capaz de reducir el daño oxidativo de manera efectiva en modelos de isquemia/reperfusión en diversos órganos (Reiter, 1998; Manda y Bhatia, 2003; Cheung, 2003; Reiter 2003).

En humanos, los niveles de melatonina en plasma comienzan un descenso a partir de los 25-35 años, y a la edad de 40-60 años se

tiene unos niveles que son un 35-50 % de los presentes en individuos jóvenes (Kennaway DJ y cols., 1999; Acuña-Castroviejo D y cols., 2004 (Magri F y cols., 2004)). Paralelamente a esta disminución de la secreción de melatonina, se produce un incremento de la tasa de producción de radicales libres, y una disminución de la actividad de enzimas antioxidantes, como SOD, GRd, y GPx, que están en parte regulados por la propia melatonina.

El hecho de que la melatonina sea una molécula pequeña lipófila y hidrofílica hace que atraviese las barreras biológicas y las membranas celulares con facilidad, difundiendo a todos los compartimentos intracelulares y concentrándose especialmente en el núcleo y la mitocondria. En definitiva, la melatonina es capaz de llegar hasta el mismo lugar donde se generan los radicales libres, neutralizándolos antes de que puedan difundir y dañar estructuras celulares. [Reiter y cols., 1999 (b)]. La administración de melatonina a los animales sometidos a isquemia reperfusion es capaz de reducir significativamente la expresión de genes inductores de estrés oxidativo e inflamación como NFkB e iNOS con lo que además disminuye el interferón alfa (Benedetti *et al.* 1993).

También se ha visto que la melatonina es capaz de disminuir los niveles de las citoquinas inflamatorias (TNF α , IL6, IL1 β , and MCP-1) con lo que disminuye la apoptosis en un modelo de lesión alcohólica hepática (Hu *et al.* 2009). La apoptosis puede iniciarse por dos vías principales que activan caspasas efectoras, que inducen muerte celular tras la reperusión. La primera vía está mediada por radicales de oxígeno y citoquinas (IL-1 β , IL-6), que alteran la membrana mitocondrial que a su vez resulta en la salida de factores proapoptóticos como el citocromo C. La segunda vía el TNF- α activa receptores (TNFR type 1) que forman complejos inductores de muerte que active a la caspasa-8 y después la caspasa-3 [Park *et al.* 2007, Rudiger 2003]. Hemos visto que el gen de la BCL2 no cambia en el hígado tras I/R, pero los genes pro-apoptóticos se incrementaron significativamente, sin que aparecieran diferencias entre los animales jóvenes y viejos tras la I/R. La expresión del mRNA de Bad se incrementa en el hígado de los animales jóvenes tras I/R, pero no en los más viejos. La melatonina disminuye la expresión de genes proapoptóticos como Bax, AIF o Bad, sin modificar la expresión de Bcl-2. Selzner *et al.* (2007) ya había informado que los hígados de ratones viejos desarrollaban baja tolerancia a los insultos isquémicos. Esto parecía asociarse con la disminución de disponibilidad de energía como podía comprobarse por la

reducción observada de la producción de ATP mitocondrial. Tras la reperfusión la actividad en el hígado de Bax se incrementa y la de Bcl-2 disminuye [LI *et al.* 2003]. La melatonina mantiene Bax en una situación no activa en la mitocondria [Selzner *et al.* 2007]; lo que previene la apoptosis. La melatonina reduce también la liberación del citocromo C al citosol y por lo tanto impide la activación de la caspasa-3 que se aparece en las ratas con I/R.

De todo lo anteriormente expuesto se deduce que nuestro modelo de isquemia tanto en las ratas Wistar jóvenes o viejas como en las ratas Zucker resulta muy conveniente para estudiar el efecto de la isquemia reperfusión sobre el hígado simulando lo que ocurre en este cuando se somete a trasplante. En todos los casos estudiados, la administración de melatonina ha sido capaz de prevenir el incremento de estrés oxidativo e inflamación que aparece tras la isquemia reperfusión disminuyendo asimismo los elementos proapoptóticos, probablemente responsables todos ellos de las alteraciones funcionales que aparecen tras el trasplante. Todos estos factores pueden seguirse mediante los niveles plasmáticos de transaminasas AST y ALT y que conducen a la aparición de alteraciones histológicas como son las micro y macroesteatosis y los infartos en el tejido hepático.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a una ayuda de la Fundación Mutua Madrileña de Investigación Médica, 2653/2008.

REFERENCIAS

- ALLEGRA, M; REITER, RJ; TAN, DX; GENTILE, C; TESORIERE, L; LIVREA, MA (2003). «The chemistry of melatonin's interaction with reactive species». *J Pineal Res* 34:1-10.
- AZCOITIA, I; PÉREZ-MARTÍN, M; SALAZAR, V; CASTILLO, C; ARIZNAVARRETA, C; GARCÍA-SEGURA, LM and TRESGUERRES, JAF (2005). «Growth hormone prevents neuronal loss in the aged rat hippocampus». *Neurobiology of Aging* 26:697-703.
- BECKMAN, KB; AMES, BN (1998). «The free radical theory of aging matures». *Physiol Rev* 78:547-581.
- BLISS, SK; BLISS, SP; BEITING, DP, *et al.* (2007). «IL-10 regulates movement of intestinally derived CD 4+ T cells to the liver». *J Immunol* 178(12):7974-7983.

- CASTILLO, C; CRUZADO, M; ARIZNAVARRETA, C; LAHERA, V; CACHOFEIRO, V; TRESGUERRES, JAF (2005). «Effects of ovariectomy and GH administration on body composition and vascular function and structure in old female rats». *Biogerontology* 6:49-60.
- CASTILLO, C; CRUZADO, M; ARIZNAVARRETA, C; GIL-LOYZAGA, P; LAHERA, V; CACHOFEIRO, V; TRESGUERRES, JAF (2005). «Effect of recombinant human GH administration on body composition and vascular function and structure in old male Wistar rats». *Biogerontology* 6:303-312.
- CASTILLO, C; SALAZAR, V; ARIZNAVARRETA, C; VARA, E; TRESGUERRES, JAF (2004). «Effect of rhGH on age related hepatocyte changes in old male and female rats». *Endocrine* 25:33-39.
- CASTILLO, C; SALAZAR, V; ARIZNAVARRETA, C; VARA, E; TRESGUERRES, JAF (2005a). «Effect of GH and estrogen administration on hepatocyte alterations changes in old ovariectomized female Wistar rats». *Endocrine* 26:11-18.
- CASTILLO, C; SALAZAR, V; ARIZNAVARRETA, C; VARA, E; TRESGUERRES, JAF (2005b). «Effect of melatonin administration on parameters related to oxidative damage in hepatocytes isolated from old Wistar rats». *J Pineal Research* 38:240-246.
- CERNADAS, MR; SÁNCHEZ DE MIGUEL, L; GARCÍA-DURÁN, M; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, F; MILLAS, I; MONTÓN, M; RODRIGO, J; RICO, L; FERNÁNDEZ, P; DE FRUTOS, T; RODRÍGUEZ-FEO, JA; GUERRA, J; CAMELO, C; CASADO, S; LÓPEZ-FARRE (1998). «Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats». *Circ Res* 83:279-286.
- CHUNG, HY; KIM, HJ; KIM, KW; CHOI, JS; YU, BP (2002). «Molecular inflammation hypothesis of aging based on the anti-aging mechanism of calorie restriction». *Microsc Res Tech* 59:264-272.
- COLLETTI, LM; REMICK, DG; BURCH, GD, et al. (1990). «Role of tumor necrosis factor- α in the pathophysiologic alterations after hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat». *J Clin Invest* 85:1936-1943.
- DE LA FUENTE, M; BAEZA, I; GUAYERBAS, N; PUERTO, M; CASTILLO, C; SALAZAR, V; ARIZNAVARRETA, C; TRESGUERRES, JAF (2005). «Changes with aging in several leukocyte functions of male and female rats». *Biogerontology* 5:389-400.
- ESCAMEZ, G (1997).
- GAO, S; LI, P; PANT, T; YANG, C (2003). «Cardioprotective effects of melatonin on recovery of rat donor hearts after 12-hour preservation». *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 23:407-410.
- GARCÍA, JJ; REITER, RJ; GUERRERO, JM; ESCAMES, G et al. (1997). «Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation». *FEBS Letters* 408:297-300.
- GARCÍA, JJ; REITER, RJ; PIÉ, J, et al. (1999). «Role of pinoline and melatonin in stabilizing hepatic microsomal membranes against oxidative stress». *Journal of Bioenergetic and Biomembranes* 31:609-616.
- GARCÍA URENA, MA; COLINA RUIZ-DELGADO, F; MORENO GONZÁLEZ, E; JIMÉNEZ ROMERO, C; GARCÍA GARCÍA, I; LOINAZ SEGUROLA, C; GONZÁLEZ-PINTO, GÓMEZ SANZ, R. (1998). «Hepatic steatosis in liver transplant donors common feature of donor population?» *World J Surg* 22:837-844.
- GHOSH, S; MAY, MJ; KOPP, EB (1998). «NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses». *Annual Rev Immunol* 16:225-260.

- GÓMEZ, CR; ACUÑA-CASTILLO, C; PÉREZ, C, et al. (2008). «Diminished acute phase response and increased hepatic inflammation of aged rats in response to intraperitoneal injection of lipopolysaccharide». *J Gerontology A Biol Sci Med Sci* 63(12):1299-1306.
- HARMAN, D (1992). «Free radical theory of aging». *Mutat Res* 275:257-266.
- HAMILTON, ML; VAN REMMEN, H; DRAKE, JA; YANG, H; GUO, ZM; KEWITT, K; WALTER, CA; RICHARDSON, A (2001). «Does oxidative damage to DNA increase with age?» *Proc Natl Acad Sci USA* 98:10469-10474.
- HAYASHI, M; TOKUNAGA, Y; FUJITA, T; TANAKA, K; YAMAOKA, Y; OZAWA, K (1993). «The effect of cold preservation on steatotic graft viability in rat liver transplantation». *Transplantation* 56:282-287.
- HSU, YC; CHOU, TY; CHEN, CF, et al. (2008). «Rat liver ischemia/reperfusion induced proinflammatory mediator and antioxidant expressions analyzed by gene chips and real-time polymerase chain reactions». *Transplantation Proceedings* 40:2156-2158.
- HU, S; YIN, S; JIANG, X, et al. (2009). «Melatonin protects against alcoholic liver injury by attenuating oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis». *Eur J Pharmacology* 616:287-292.
- INCI, I; INCI, D; DUTLY, A, et al. (2002). «Melatonin attenuates posttransplant lung ischemia-reperfusion injury». *Ann Thorac Surg* 73:220-225.
- JAESCHKE, H; FARHOOD, A; BAUTISTA, AP, et al. (1993). «Functional inactivation of neutrophils with aMac-1 (CD11b/CD18) monoclonal antibody protects against ischemia-reperfusion injury in rat liver». *Hepatology* 17:915-923.
- KIM, SH; LEE, SM (2008). «Cytoprotective effects of melatonin against necrosis and apoptosis induced by ischemia/reperfusion injury in rat liver». *J Pineal Res* 44(2):165-171.
- KIREEK, RA; TRESGUERRES, ACF; CASTILLO, C; SALAZAR, V; ARIZNAVARRETA, C; VARA, E and TRESGUERRES, JAF (2007). «Effect of exogenous administration of melatonin and GH on prooxidant functions of the liver in aging male rats». *J. Pineal Research* 42:64-70.
- KIREEV, RA; TRESGUERRES, AF; VARA, E; ARIZNAVARRETA, C and TRESGUERRES, JAF (2007b). «Effect of chronic treatments with GH, melatonin, estrogens and phytoestrogens on oxidative stress parameters in liver from aged female rats». *Biogerontology* 8:469-482.
- KIREEV, RA; TRESGUERRES, ACF; GARCÍA, C; ARIZNAVARRETA, C; VARA, E; TRESGUERRES, JAF (2008). «Melatonin is able to prevent the liver of old castrated female rats from oxidative and proinflammatory damage». *J. Pineal Research* 45:394-402.
- KIREEV, RA; TRESGUERRES, ACF; GARCÍA, C; BORRAS, C; ARIZNAVARRETA, C; VARA, E; VINA, J; TRESGUERRES, JAF (2010). «Hormonal regulation of proinflammatory and lipid peroxidation processes in liver of old ovariectomized female rats». *Biogerontology* 11:229-243.
- KONERU, B; REDDY, MC; DE LA TORRE, AN; PATEL, D; IPPOLITO, T; FERRANTE, RJ (1995). «Studies of hepatic warm ischemia in the obese Zucker rat». *Transplantation* 59:942-946.
- LAW, A; O'DONNELL, J; GAUTHIER, S; QUIRION, R (2002). «Neuronal and inducible nitric oxide synthase expressions and activities in the hippocampi and cortices of young adult, aged cognitively unimpaired, and impaired Long-Evans rats». *Neuroscience* 112:267-275.

- LENTSCH, AB; YOSHIDOME, H; CHEADLE, WG, et al. (1998). «Chemokine involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: roles for macrophage inflammatory protein-2 and KC». *Hepatology* 27:1172-1177.
- LENTSCH, AB; YOSHIDOME, H; KATO, A, et al. (1999). «Requirement for interleukin-12 in the pathogenesis of warm hepatic ischemia/reperfusion injury in mice». *Hepatology* 30:1448-1453.
- LEÓN, J; ACUÑA-CASTROVIEJO, D; ESCAMES, G; TAN, DX; REITER, RJ (2005). «Melatonin mitigates mitochondrial malfunction». *J Pineal Res* 38:1-9.
- LI, SQ; LIANG, LJ; HUANG, JF; LI, Z (2003). «Hepatocyte apoptosis induced by hepatic ischemia-reperfusion injury in cirrhotic rats». *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2:102-105.
- MARSMAN, WA; WIESNER, RH; RODRÍGUEZ, L; BATTS, KP, et al. (1996). «Use of fatty donor liver is associated with diminished early patient and graft survival». *Transplantation* 62:1246-1251.
- MATA, M; DE LA BARRERA, P; FRAGA, E; MONTERO, JL; POZO, JC; RUFÍAN, S; PADILLO, J; SOLORZANO, G (2004). «Impacto del sistema MELD en la selección de candidatos para trasplante hepático». *Gastroenterol Hepatol* 27(Suppl 4): 62-65.
- MATESANZ, R; MIRANDA, B, editors (2004). «International figures on organ donation and transplantation 2003». *Transplant Newsletter, Council of Europe* 9:3-38.
- MIRANDA, B; CAÑÓN, J; CUENDE, N; GARRIDO, G; NAYA, MT; FERNÁNDEZ-ZINCKE, E (2003). «Disparities in access to liver transplantation in Spain». *Transplantation* 76:1398-1403.
- MOENCH, C; UHRIG, A; LOHSE, AW; OTTO, G (2003). «The role of monocyte chemoattractant protein-1 in orthotopic liver transplantation». *Transplantation Proceedings* 35:1452-1455.
- OKATANI, Y; WAKATSUKI, A; REITER, RJ, et al. (2003). «Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver». *Eur J Pharmacol* 469:145-152.
- PARK, Y; HIROSE, R; COATNEY, JL, et al. (2007). «Ischemia-reperfusion injury is more severe in older versus young rat livers». *Journal of Surgical Research* 137:96-102.
- PÉREZ-MARTÍN, M; SALAZAR, V; CASTILLO, C; ARIZNAVARRETA, C; AZCOITIA, I; GARCÍA-SEGURA, LM and TRESGUERRES, JAF (2005). «Estradiol and soy extract increase the production of new cells in the dentate gyrus of old rats». *Exper Gerontology* 40:450-453.
- PIER, C; MARRA, M; MORONI, F; RECCHIONI, R; MARCHESELLI, F. (1994). «Melatonin: A peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E». *Life Science* 55:PL-271-PL-276.
- REITER, RJ (1995). «Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain». *FASEB Journal* 9:526-533.
- RUDIGER, HA; GRAF, R; CLAVIEN, PA (2003). «Liver ischemia: apoptosis as a central mechanism of injury». *J Invest Surg* 16:149-159.
- «Select Committee of Experts on the Organisational Aspects of Cooperation in Organ Transplantation. Council of Europe. Meeting the organ shortage: current status and strategies for improvement of cadaveric organ donation». Madrid: ONT, 1996.
- SELZNER, M; CLAVIEN, PA (2001). «Fatty liver in liver transplantation and surgery». *Semin Liver Dis* 21:105-113.

- SELZNER, M; SELZNER, N; JOCHUM, W, et al. (2007). «Increased Ischemic Injury in Old Mouse Liver: An ATP-Dependent Mechanism». *Liver Transplantation* 13:382-390
- SEWERINEK, E; REITER, RJ et al. (1996). «Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: protection by melatonin». *Hepatogastroenterology* 43:898-905.
- SOHAL, RS; MOCKETT, RJ; ORR, WC (2002). «Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis». *Free Rad Biol Med* 33:575-586.
- TAN, DX; CHEN, LD; POEGGELER, B; MANCHESTER, LC; REITER (1993). «Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger». *Endocrine Journal* 1:57-60.
- TRESGUERRES, JAF; CASTILLO, C; SALAZAR, V; GARCÍA SEGURA, LM; VARA, E; DE LA FUENTE, M; TRESGUERRES, ACF; ARIZNAVARRETA, C (2004). «Efecto de las hormonas sobre el envejecimiento del Sistema Nervioso, el Sistema Inmunitario y la piel en ratas». *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina CXXI*:157-179.
- TROEN, BR (2003). «The Biology of aging». *The Mount Sinai Journal of Medicine* 70:3-22.
- TUÑÓN, MJ; SAN MIGUEL, B; CRESPO, I, et al. (2011). «Melatonin attenuates apoptotic liver damage in fulminant hepatic failure induced by the rabbit hemorrhagic disease virus». *J Pineal Res* 50(1):38-45.
- VAIRETTI, M; FERRIGNO, A; BERTONE, R et al. (2005). «Exogenous melatonin enhances bile flow and ATP levels after cold storage and reperfusion in rat liver: implications for liver transplantation». *J Pineal Res* 38:223.
- YANG, ZF; HO, DW; NGAI, P, et al. (2007). «Anti-inflammatory properties of IL-10 rescue small-for-size liver grafts». *Liver Transplantation* 13(4):558-565.
- ZÚÑIGA, J; VENEGAS, F; VILLARREAL, M, et al. (2010). «Protection against in vivo liver ischemia-reperfusion injury by ω -3 long-chain polyunsaturated fatty acids in the rat». *Free Radic Res* 44(8):854-63.

INTERVENCIONES

Prof. Seoane Prado

La completa y didáctica presentación del Prof. Tresguerres me sugiere dos cuestiones de carácter bioquímico: La primera se refiere al modo en que se valora el estrés oxidativo en los procesos con y sin aportación de melatonina, ¿se usan kits comerciales o se valoran en función de moléculas como el malondialdehído? ¿cómo se cuantifica, por ejemplo, la hemooxigenasa 1 o la óxido nítrico sintetasa? En segundo lugar, resulta de gran interés el hecho de que la melatonina resulte más activa por vía oral que parenteral y ello sugiere que tal vez el verdadero reactante en los procesos estudiados no sea la propia melatonina si no un posible metabolito gene-

rado a partir de ella en el tracto digestivo. ¿Existe algún dato en este sentido?

Prof. García-Sancho Martín

Le felicito por su interesantísima, brillante y didáctica conferencia y me permito hacerle dos preguntas y una consideración:

Preguntas:

PRIMERA: ¿Se han hecho estudios de la eficacia de la melatonina en otras situaciones clínicas de isquemia-reperusión? Me refiero a la reperusión que tiene lugar tras un choque hemorrágico o un choque séptico hipodinámico, cuando cesa el aumento de la resistencia vascular periférica que como mecanismo defensivo intenta mantener la presión arterial; o cuando en la isquemia intestinal, se establece la fase de reperusión después de resolver aquella bien sea, según los casos, mediante una embolectomía, una tromboendarteriectomía o una reimplantación de la arteria mesentérica superior, distal a la obstrucción, en la aorta,

SEGUNDA: El aumento de dialdehído-malónico ¿es un buen y fiable marcador biológico de isquemia intestinal? Si es así sería muy interesante como medio de diagnóstico e indicar la cirugía urgente en casos de estrangulación intestinal.

CONSIDERACIÓN: Es más correcto decir y escribir interleucina que interleuquina; nunca debe usarse en español interleukina, que es una traducción inadecuada de la palabra inglesa *interleukin*.

Le reitero mi felicitación.

Prof. Blázquez Fernández

Mi más sincera enhorabuena por la magnífica presentación de unos hallazgos que pueden considerarse como espectaculares, en la acción inhibidora de la melatonina sobre la formación de citocinas implicadas en procesos inflamatorios y de deterioro celular.

En relación con las ratas obesas Zucker, quiero recordar que estos animales son resistentes a la acción de la insulina y que por otra parte las secreciones y acciones biológicas de las hormonas pancreáticas, insulina y glucagón, están moduladas por melatonina..

Estos últimos datos que fueron descritos por nosotros hace años, podrían explicar y realzar lo encontrado por ustedes. Por ello me gustaría conocer si se han hecho o piensan realizar nuevas experiencias en esa dirección.

También quisiera conocer si los efectos de la melatonina presentados en la sesión de hoy pueden ser potenciados por otros antioxidantes.

Finalmente siento curiosidad por saber en que líquido biológico o muestras tisulares fueron determinadas las citocinas estudiadas.

Asimismo reitero de nuevo mis felicitaciones por el excelente trabajo presentado.

CONTESTACIONES

Al Prof. Seoane: Muchas gracias por sus palabras. La valoración del estrés oxidativo se realiza mediante la medida, bien sea por ELISA o por colorimetría del malondialdehído, y por PCR los enzimas antioxidantes. Efectivamente, la mayor actuación de la melatonina por vía oral parece indicar un mayor efecto de los metabolitos. Existen datos preliminares que lo confirman.

Al Prof. García-Sancho: Muchas gracias por su felicitación. Efectivamente, se han estudiado los efectos de la melatonina en la isquemia reperusión de otros órganos como el corazón o el cerebro. No tengo datos del intestino con isquemia, pero sí en el intestino de animales viejos, donde también es capaz la melatonina de revertir la acción prooxidante incrementada.

Probablemente el malonil dialdehído plasmático no sea un buen marcador. Sí lo es en el tejido directamente.

Yo procuro utilizar interleuquina.

Al Prof. Blázquez: Gracias por su enhorabuena y sus preguntas. No hemos investigado la resistencia a la insulina en las ratas Zucker. Todas las muestras se han determinado en el tejido hepático. No hemos comprobado si se puede potenciar el efecto con otros antioxidantes.

XIV SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 24 DE MAYO DE 2011

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA

EL REMODELADO ELÉCTRICO EN LA FIBRILACIÓN AURICULAR: DIFERENCIAS INTER-AURICULARES

DIFFERENCES IN ATRIAL REMODELLING BETWEEN RIGHT AND LEFT ATRIA IN PATIENTS WITH CHRONIC ATRIAL FIBRILLATION

Por el Excmo. Sr. D. JUAN TAMARGO MENÉNDEZ

Académico Correspondiente

Resumen

La fibrilación auricular se inicia con frecuencia en la aurícula izquierda, desde donde invade ambas aurículas produciendo un acortamiento no uniforme en la duración de los potenciales de acción y de los periodos refractarios auriculares. Nuestro estudio tenía como objetivo determinar si el remodelado eléctrico producido por la fibrilación auricular crónica (FAC) produce cambios en las corrientes de potasio voltaje-dependientes que determinan la duración del potencial de acción y del periodo refractario entre la aurícula derecha e izquierda en pacientes en ritmo sinusal (RS) o con FAC. Las corrientes se registraron utilizando la técnica del parche de membrana en su configuración de célula entera. Demostramos que, tanto en RS o durante la FAC, existen en ambas aurículas tres tipos de células atendiendo a la corriente repolarizante de potasio que predomina: la corriente transitoria Ca^{2+} -independiente sensible a 4-aminopiridina (I_{to1}) y los componentes ultrarrápido (I_{Kur}), rápido (I_{Kr}) y lento (I_{Ks}) de la corriente que presenta rectificación interna. La FAC modifica de forma diferente estas corrientes en cada aurícula. La FAC reduce la I_{to1} de forma más marcada en la aurícula izquierda que

en la derecha, mientras que I_{Kur} se reduce de forma más marcada en la aurícula derecha que en la izquierda. Sorprendentemente, la FAC producía un marcado aumento de la I_{Ks} en ambas aurículas. Este aumento se acentuaba por el isoproterenol y se bloqueaba con atenolol. Todos estos cambios producen un acortamiento no uniforme de la repolarización auricular que facilita la reentrada del impulso cardíaco y la estabilización de la arritmia.

Abstract

Atrial fibrillation starts in the left atrium and from there the activity invades the atrial tissues and causes an inhomogeneous shortening of the duration of atrial action potential duration and refractoriness. The purpose of this study was to compare the voltage-dependent potassium currents in human cells isolated from the right and left atria and to determine whether electrical remodeling produced by chronic atrial fibrillation (CAF) differentially affects voltage-dependent potassium currents involved in atrial repolarization in each atrium as compared to sinus rhythm (SR). The currents were recorded using the whole-cell configuration of the patch-clamp technique. We found that in atrial cardiomyocytes of patients both in SR and in CAF there are three types of cells according to their main voltage-dependent repolarizing potassium current: the Ca^{2+} -independent 4-aminopyridine sensitive component of the transient outward current (I_{to1}) and the ultrarapid (I_{Kur}), rapid (I_{Kr}) and slow (I_{Ks}) components of the delayed rectifier current. CAF differentially modified the proportion of these 3 types of cells on each atrium: CAF reduced the I_{to1} more markedly in the left than in the right atria, while I_{Kur} was more markedly reduced in the right than in the left atria. Interestingly, in both atria, CAF markedly increased the I_{Ks} . This increase was enhanced by isoproterenol and suppressed by atenolol. These changes produce a non-uniform shortening of atrial repolarization that facilitates the reentry of the cardiac impulse and the perpetuation of the arrhythmia.

INTRODUCCIÓN

En 1979 Gelbland y cols. (1) registraron en la aurícula derecha humana dos tipos de potenciales de acción con morfologías bien dispares: unos que presentaban un pico prominente seguido de una fase de meseta bien diferenciada y que corresponderían al tejido especializado de conducción y otros que no presentaban estas características y que corresponderían al músculo auricular propiamente dicho (1). Posteriormente, se identificaron tres morfologías distintas en los potenciales de acción registrados en cardiomiocitos aislados de aurículas derechas humanas (2) y se demostró que el período refractario auricular (PRA) humano era más corto en la aurícula izquierda (AI) que en la derecha (AD) (3), lo que se atribuyó a que existirían diferencias en la expresión de los canales a cuyo través se

generan las corrientes que generan dichos potenciales de acción. Sin embargo, estudios en los que se analizaba la expresión de los genes que codifican las subunidades alfa y beta que constituyen los canales iónicos cardiacos no pudieron demostrar la existencia de tales diferencias entre las AD y AI (4). Por otro lado, hasta la fecha no disponemos de estudios en los que se comparen las posibles diferencias existentes en las corrientes de salida de potasio entre los cardiomiocitos aislados de las AD y AI humanas procedentes de pacientes en ritmo sinusal (RS) y/o en fibrilación auricular (FA).

La FA produce cambios importantes en la actividad eléctrica auricular (remodelado eléctrico) que se caracterizan por un acortamiento no uniforme de la duración de los potenciales de acción (DPA) y del PRA y una pérdida de la adaptación de la DPA a los cambios en la frecuencia (5). Estudios realizados en modelos animales y en pacientes con FA crónica (FAC) han demostrado que existen diferencias en el tipo de FA que se genera entre la AD y AI, observándose que la AI se activa a frecuencias significativamente más rápidas que la AD, algo que es particularmente evidente en los pacientes con FA paroxística (6-8). Sin embargo, desconocíamos si este remodelado eléctrico auricular afecta de forma distinta a la AD y a la AI en los pacientes con FAC. Por todo lo anterior, el objetivo de nuestro trabajo era estudiar y comparar en cardiomiocitos auriculares aislados de las orejuelas de la AD y de la AI procedentes de pacientes en ritmo sinusal (RS) y con FAC: 1) la distribución de los tipos celulares, y 2) los posibles cambios producidos por la FAC sobre cuatro corrientes voltaje-dependientes de salida de potasio que determinan la repolarización auricular: la corriente transitoria Ca^{2+} -independiente sensible a 4-aminopiridina (4-AP) (I_{tot}) y los componentes ultrarrápido (I_{kur}), rápido (I_{kr}) y lento (I_{ks}) de la corriente que presenta rectificación interna.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Investigación del Hospital Universitario Gregorio Marañón (CNIC-13) y se ajusta a los principios de la Declaración de Helsinki en lo relativo a la investigación con muestras humanas. Cada paciente recibió, leyó y firmó un documento de consentimiento informado dando su conformidad para la utilización de las muestras procedentes de su intervención en este estudio.

Las muestras de AD y AI fueron obtenidas de pacientes en RS y con FAC que iban a ser sometidos a cirugía cardíaca en el Hospital Universitario Gregorio Marañón. Todos los pacientes incluidos en el grupo FAC llevaban más de 6 meses en FA cuando se produjo la intervención. Se utilizaron cardiomiocitos aislados de las orejuelas de la AD y AI procedentes del un mismo paciente que se encontraba en RS ($n = 26$) o en FAC ($n = 15$). No se apreciaron diferencias en la edad, sexo, tipo de cardiopatía (valvular o isquémica), niveles plasmáticos de creatinina o fracción de eyección del ventrículo izquierdo entre los pacientes en RS o en FAC. La única diferencia significativa observada entre ambos grupos era el diámetro de la aurícula izquierda, que fue mayor en los pacientes en FAC (4.8 ± 0.2 vs 4.2 ± 0.3 cm, $P < 0.05$).

1. *Estudios electrofisiológicos.* Los cardiomiocitos auriculares se aislaron según técnicas descritas por nuestro laboratorio y las corrientes auriculares humanas se registraron utilizando la técnica de fijación de voltaje en parche de membrana (*patch-clamp*) en su configuración de célula entera (*whole-cell*) (9-13). Las células se perfundían con una *solución externa* cuya composición era (mM): NaCl 140, KCl 4, CaCl_2 1, MgCl_2 1, HEPES 10, glucosa 10, nifedipina ($1 \mu\text{M}$) y atropina ($1 \mu\text{M}$) (pH 7.4 con NaOH). Las micropipetas de registro, que presentaban una resistencia de punta inferior a $3.5 \text{ M}\Omega$, se rellenaron con una *solución interna* con la siguiente composición (mM): K-aspartato 80, KCl 42, KH_2PO_4 10, MgATP 5, fosfocreatina 3, HEPES 5 y EGTA 5 (pH 7.2 con KOH). Los artefactos de corriente capacitiva generados tras la aplicación de pulsos desde -80 mV a -70 mV se registrarán a 50 KHz (filtrados a 10 KHz) para calcular la capacitancia de la célula, la resistencia de acceso y la impedancia de entrada. En miocitos de pacientes en RS los valores medios del pico máximo de las corrientes de salida de K^+ a $+50$ mV, la resistencia de acceso y la capacitancia (C_m) eran 1008.5 ± 44.3 pA, $3.2 \pm 0.4 \text{ M}\Omega$ y 72.3 ± 4.0 pF ($n = 121$), respectivamente. En miocitos de pacientes con FAC los valores medios eran 691.5 ± 50.1 pA ($P < 0.001$ vs. SR), $2.9 \pm 0.6 \text{ M}\Omega$ ($P > 0.05$ vs. SR), and 98.5 ± 5.5 pF ($n = 62$) ($P < 0.001$ vs. SR), respectivamente. Por lo tanto, en estas condiciones, los posibles errores de voltaje debidos a las resistencias en serie eran mínimos (<5 mV). Las corrientes se muestrearon a 4 kHz, se filtraron a la mitad de la frecuencia de muestreo y se almacenaron en el disco duro de un ordenador para su posterior análisis.

2. *Análisis de la expresión del ARNm de los canales de potasio.* El ARN total fue aislado de orejuelas auriculares humanas procedentes de 4 pacientes en RS y 4 con FAC siguiendo protocolos descritos previamente (13). El ARN fue purificado de muestras de tejido homogeneizadas utilizando el kit de RNeasy midi (Qiagen, Reino Unido) y se cuantificó mediante fotometría ($\lambda = 260$ nm). La pureza de las muestras se verificó con un NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, EEUU). La densidad de los productos de la PCR se cuantificó por densitometría (Gel Logic 1500 Imaging System; Kodak, EEUU). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante transcripción inversa (RT-PCR) se realizó utilizando el *kit* One-step RT-PCR (Qiagen). Los oligonucleótidos específicos para la amplificación parcial de los genes Kv4.3, Kv1.5, Kv7.1 (KvLQT1) y minK, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y proteína cinasa C fueron sintetizados por Roche Diagnostics vis TIB-Molbiol, (Alemania).

3. *Remodelado de la expresión del receptor adrenérgico $\beta 1$.* La RT-PCR se realizó como acabamos de describir. El molde de ADNc obtenido se sometió a una PCR cuantitativa (qPCR) en tiempo real utilizando los *kits* Taqman-based ABI gene expresión y TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (ABI) y un termociclador (StepOne real-time thermocycler engine; ABI). Para el análisis de la expresión del receptor $\beta 1$ -adrenérgico se utilizó el kit de expresión génica hCG39839 de TaqMan, específico para este gen (ADRB1, *Homo sapiens* $\beta 1$ -adrenoceptor, RefSeq: NM_000684.2), y se usó la expresión del ARNr eucariótico 18S como control endógeno para la normalización de la expresión. Los resultados se analizaron utilizando el programa One-Step (ABI).

3. *Análisis estadístico.* Los resultados se expresan como media $\pm$ ESM para un determinado número (n) de experimentos. Las comparaciones entre diferentes grupos de datos fueron realizadas mediante la prueba *t* de Student no pareada o mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía, seguido de un test de Newman-Keuls. Las comparaciones entre las variables de categoría se realizaron mediante el test exacto de Fisher. Se consideraron como significativas aquellas diferencias cuyo valor de P resultó ser < 0.05 .

RESULTADOS

1. *Tres tipos de células auriculares.* Para los experimentos electrofisiológicos se realizaron en 22 muestras de pacientes en ritmo si-

nusal (RS) y en 11 procedentes de pacientes con FAC. La determinación de la capacitancia de la membrana nos permitió demostrar que el tamaño medio de los cardiomiocitos obtenidos de la AD y AI era mayor en los pacientes con CAF que en los que estaban en RS (108.8 ± 12.7 frente a 69.2 ± 6.4 pF y 116.7 ± 7.9 frente a 68.0 ± 7.6 pF, $n = 120$, respectivamente, $P < 0.001$). Sin embargo, tanto en los pacientes en RS como en los que se encontraban en FAC no observamos diferencias en la capacitancia entre los cardiomiocitos de AI y los de AD ($P > 0.05$).

El primer hallazgo de este estudio fue que, tanto en RS como en FAC, era posible distinguir tres tipos de células en la aurícula humana atendiendo al tipo de corriente de salida de potasio predominante (figura 1). Aproximadamente, el 35% de los miocitos aislados de la AI en pacientes en RS presentaban una corriente que presentaba una rápida activación e inactivación, por lo que la amplitud de

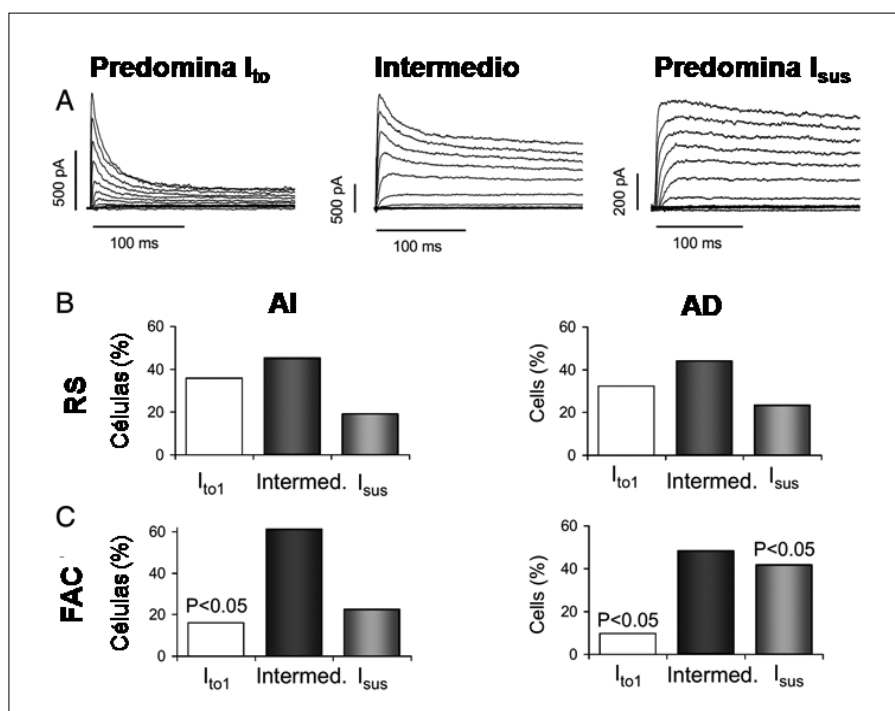


Fig. 1: La fibrilación auricular crónica modifica la distribución de las corrientes que determinan la repolarización auricular humana. AD/AI: aurícula derecha/izquierda. RS: ritmo sinusal.

la corriente registrada al final de un pulso de 250 ms de duración era ~20 % de la amplitud máxima. Ello claramente indicaba que la principal corriente repolarizante durante la fase de meseta en estas células era la corriente transitoria Ca^{2+} -independiente sensible a 4-aminopiridinas (4-AP) denominada I_{to1} . Sin embargo, la I_{to1} estaba completamente ausente en el 20 % de las células, que presentaban una corriente que se activaba muy rápidamente, pero que no se inactivaba, por lo que la amplitud de la de la corriente registrada al final de un pulso de 250 ms de duración era ~85 % de la amplitud máxima; en estas células la principal corriente repolarizante era la I_{sus} (*mantenida*). Por último, un 45 % de las células de la AI presentaba un *patrón intermedio*. Es interesante señalar que en pacientes en RS no existían diferencias en la distribución del tipo celular entre la AD y la AI y que, en general, las células en las que predomina la I_{to1} presentaban un menor tamaño que aquellas en las que predominaba I_{sus} .

En pacientes con FAC se modificaba la distribución del tipo de células entre la AD y la AI. En la AI se producía una reducción significativa en el porcentaje de células en las que predominaba la I_{to1} y aumentaba el porcentaje de células que mostraban un patrón intermedio; en la AD de los pacientes con FAC también disminuía significativamente el porcentaje de células en las que predomina la I_{to1} , a la vez que aumentaba de forma significativa el porcentaje de células en las que predomina la I_{sus} . Como consecuencia, en la FAC los tipos celulares ya no se distribuían de forma uniforme en la AD y en la AI. Además, se anulaban las diferencias observadas en la capacitancia, lo que indicaba que la FAC se asociaba a una hipertrofia de todas las células auriculares.

2. *Corriente transitoria*. En la AD, la amplitud I_{to1} era similar en cardiomiocitos procedentes de pacientes en RS o en FAC (3.9 ± 0.9 pA/pF frente a 3.4 ± 0.7 pA/pF, $n = 16$, $P > 0.05$), pero la I_{to1} disminuía significativamente en la AI a potenciales positivos a -30 mV en pacientes en FAC. Sin embargo, cuando analizábamos la densidad de la I_{to1} (normalizando la amplitud de la corriente por la capacitancia de la células) en función del potencial de membrana en cardiomiocitos de pacientes en FAC, ésta disminuía marcadamente en la AD a potenciales de membrana $\geq +20$ mV, mientras que en la AI esta reducción ya aparecía a potenciales de membrana ≥ -20 mV. Sin embargo, la FAC no modificaba la cinética-voltaje y tiempo-dependiente de la I_{to1} .

Si ahora analizamos lo que sucede en cardiomiocitos cuando el potencial de membrana alcanza los + 30 mV (potencial que se alcanza durante el potencial de acción cardíaco en condiciones fisiológicas), demostramos que la FAC producía una marcada reducción en la amplitud de la I_{to1} en las células de la AI, pero no en las de la AD, y que disminuía de forma importante la densidad de la corriente en ambas aurículas, aunque el efecto era más marcado en la AI. Por lo tanto, la CAF producía la aparición de diferencias en la amplitud y densidad de la I_{to1} entre la AD y la AI.

3. *Corriente I_{sus} (mantenida)*. En SR, la amplitud y densidad de la I_{sus} eran mayores en los cardiomiocitos de la AD que en la AI (densidad: 7.2 ± 0.7 frente a 5.5 ± 0.7 pA/pF, respectivamente, $n = 24$, $P < 0.05$). En la AI, la amplitud de la I_{sus} era similar en pacientes en RS o con FAC, mientras que la amplitud de la corriente disminuía marcadamente en la AD a potenciales positivos a -20 mV. Sin embargo, en pacientes con FAC la densidad de la I_{sus} disminuía significativamente tanto en la AD como en la AI a potenciales positivos a -10 y -20 mV, respectivamente. Cuando analizábamos la amplitud y densidad de la I_{sus} a + 30 mV en cardiomiocitos procedentes de pacientes en RS podemos ver que ambos parámetros eran mayores en la AD que en la AI; en miocitos de pacientes en FAC la amplitud de la corriente disminuía sólo en la AD, pero no se modificaba en la AI. Sin embargo, y posiblemente debido a la hipertrofia de las células auriculares, la FAC disminuía la densidad de la I_{sus} de forma similar en ambas aurículas. Es decir, que en pacientes con FAC desaparecían las diferencias en la densidad de la corriente observadas en RS.

4. *Análisis de los componentes de la I_{sus}* . La I_{sus} no es una única corriente iónica, sino que es el resultado de la activación de varias corrientes iónicas (I_{to1} , I_{Kur} , I_{Kr} e I_{Ks}). Por tanto, nuestro siguiente objetivo era identificar las corrientes responsables de la I_{sus} en la AD y en la AI. La amplitud de la I_{Kr} se determinó cuantificando los cambios en corriente registrada en cardiomiocitos tratados con dofetilida ($1 \mu\text{mol/L}$), un bloqueante específico y selectivo de la I_{Kr} . Ello nos permitió demostrar que la amplitud de la I_{Kr} era mínima en ambas aurículas en cardiomiocitos procedentes de pacientes en RS y que no se modificaba por la FAC. A continuación perfundimos las células con dos concentraciones de 4-aminopiridina (4-AP): a) $50 \mu\text{mol/L}$, que bloquea selectivamente la I_{Kur} generada a través de los canales $Kv1.5$ y b) $2 \mu\text{mol/L}$, que bloquea, además, la I_{to1} (14). La admi-

nistración de dosis bajas de 4-AP permitió demostrar que la I_{Kur} era responsable de más del 70 % de la amplitud de la I_{sus} registrada y que esta corriente era significativamente mayor en la AD que en la AI. Con la dosis más alta de 4-AP pudimos reconfirmar que en RS la amplitud de la I_{to1} era mayor en la AD que en la AI y que la FAC disminuía la amplitud de esta corriente sólo en la AD.

5. *Corriente rectificadora tardía (I_{Ks})*. El hallazgo más sorprendente fue que en cardiomiocitos de pacientes en FAC perfundidos con 2 mmol/L de 4-AP la corriente registrada (insensible a 4-AP) al final del pulso despolarizante era mayor en células de pacientes en FAC que en los que estaban en RS y que este aumento aparecía en ambas aurículas por igual. Esta corriente era generada a través de un canal de potasio voltaje-dependiente ya que se bloqueaba con tetraetilamonio (un bloqueante inespecífico de los canales de potasio). Demostramos que esta corriente presentaba una cinética de activación muy lenta ($\tau_{act} = 2.2$ seg a + 60 mV), un punto medio de activación positivo ($V_h = +7.2$ mV a 0 mV) y se bloqueaba con HMR-1556, un bloqueante selectivo de la del componente lento de la corriente rectificadora tardía o I_{Ks} (14). Por tanto, podíamos concluir que la CAF aumentaba significativamente la amplitud y densidad de la I_{Ks} en ambas aurículas, una corriente cuya amplitud era difícilmente detectable en cardiomiocitos auriculares de pacientes en RS.

6. *Remodelado del ARNm*. La FAC no modificaba los niveles del ARNm de la subunidad alfa de los canales Kv1.5 (que generan la I_{Kur}), pero disminuía la de los canales Kv4.3 (que generan la I_{to1}) y Kv1.7 (que generan la I_{Ks}). Por el contrario, el ARNm de MinK (la subunidad beta de los canales que generan la I_{Ks}) aumentaba marcadamente en la aurícula de los pacientes en FAC con respecto a la pobre expresión observada en las aurículas de pacientes en RS.

7. *Regulación de la I_{Ks} por el tono simpático*. Dado que la amplitud de la I_{Ks} aumenta tras la activación del tono simpático analizamos los efectos del isoproterenol, un agonista de los receptores β_1 -adrenérgicos sobre la I_{Ks} registrada en miocitos auriculares procedentes de pacientes en RS o en FAC. En pacientes en RS la amplitud de la I_{Ks} era muy baja en la AI y AD (0.2 ± 0.03 pA/pF a + 30 mV, $n = 16$), pero aumentaba marcadamente en pacientes con FAC (0.58 ± 0.06 pA/pF a + 30 mV; $n = 30$, $P < 0.01$). El isoproterenol aumentaba significativamente la densidad de la I_{Ks} en cardiomiocitos de pacientes en RS, pero particularmente en pacientes en FAC. Es importante destacar que en las células de pacientes con FAC el aumento de la densi-

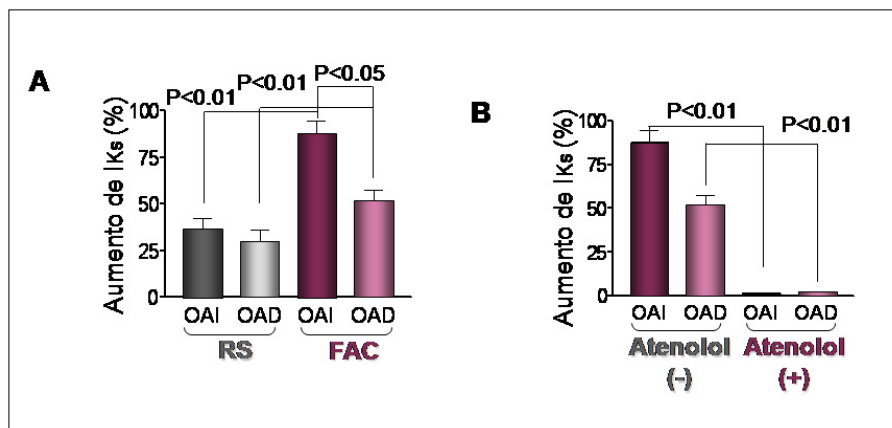


FIG. 2: El isoproterenol aumenta la magnitud de la I_{Ks} registrada en cardiomiocitos auriculares procedentes de pacientes en ritmo sinusal (RS) o con fibrilación auricular crónica. (A) Porcentaje de aumento de la I_{Ks} a +30 mV producido por isoproterenol en cardiomiocitos procedentes de muestras de la orejuela de la aurícula derecha (OAD) o de la aurícula izquierda (OAI). (B) Efecto del atenolol (1 μ M), un bloqueante β 1-adrenérgico, sobre los efectos producidos por el isoproterenol. Cada barra representa la media $\pm$ EEM de más de 8 experimentos.

dad de la I_{Ks} que producía el isoproterenol era significativamente mayor en los cardiomiocitos de la AI que en los de la AD (figura 2). Este aumento de la I_{Ks} que producía el isoproterenol se suprimía con atenolol.

Para analizar si este aumento se podría atribuir a que la FAC produce un aumento en la expresión de receptores β 1-adrenérgicos a nivel auricular analizamos los niveles de ARNm de estos receptores en la AD y la AI de pacientes en RS o en FAC. Pudimos comprobar que la densidad de receptores β 1-adrenérgicos aumentaba en las muestras de los pacientes en FAC con respecto a las de los que se encontraban en RS. El número de ciclos a los que se alcanzaba los valores umbral correspondientes a los niveles de ARNm de los receptores β 1-adrenérgicos normalizados con respecto al ARNr 18S (Δ Ct), eran significativamente menores en las muestras de pacientes en FAC que en las de los que se encontraban en RS ($n = 16$). La conversión de los valores de Δ Ct en valores de diferencia relativa entre las muestras demostraron que la expresión de receptores β 1-adrenérgicos era un 27 % mayor en las muestras de FAC que en las de RS y que el aumento de la expresión de los receptores β 1-adrenérgicos era significativamente mayor en la AI que en la AD (figura 2C).

8. *Repercusión funcional del aumento de la I_{Ks}* . Finalmente analizamos los efectos de la estimulación de los receptores $\beta 1$ -adrenérgicos sobre los potenciales de acción registrados en cardiomiocitos procedentes de pacientes en RS o en FAC. En cardiomiocitos de pacientes en RS el isoproterenol prolongaba significativamente la DPA medida al 20 % (DPA_{20}), al 50 % (DPA_{50}) y al 90 % (DPA_{90}) de la repolarización. Por el contrario, en los cardiomiocitos de pacientes en FAC el isoproterenol prolongaba significativamente la DPA_{20} pero acortaba la DPA_{90} .

DISCUSIÓN

Nuestros resultados demostraban que los miocitos de ambas aurículas procedentes de pacientes en RS o en FAC eran eléctricamente heterogéneos. Tanto en RS como en presencia de FAC existían diferencias en las corrientes que determinaban la repolarización auricular, pudiendo diferenciar tres tipos celulares, uno en el que predomina la I_{to1} , otro en el que predomina la I_{sus} y otro en el que ambas corrientes participan en la repolarización auricular. En RS, la mayoría de las células presentaban un patrón intermedio, siendo igual la proporción de células con patrón predominante de I_{to1} e I_{sus} en ambas aurículas.

Sin embargo, esta distribución homogénea se rompe en la FAC, de tal forma que aunque en ambas aurículas disminuye el porcentaje de células en las que predomina la I_{to1} , esta reducción se acompaña de un aumento en el porcentaje de células con patrón intermedio en la AI y de un aumento en las células en las que la I_{sus} determina la repolarización en la AD. Además, la CAF produce otros dos cambios importantes: 1) una hipertrofia de todas las células auriculares y 2) un cambio en la distribución de las corrientes que determinan la repolarización auricular. Así, la FAC reduce la amplitud y densidad de la I_{to1} más marcadamente en la AI que en la AD, lo que se traduce en una mayor densidad de I_{to1} en el AD. Es decir, que la FAC crea un gradiente en la densidad de la I_{to1} entre la AD y la AI. Por el contrario, la FAC promueve una marcada disminución de la amplitud y densidad de la I_{sus} que es más marcada en la AD que en la AI, por lo que la FAC anula el gradiente existente en la densidad de la I_{sus} entre ambas aurículas. Sin embargo, pudimos comprobar que la I_{Kr} , la principal corriente responsable de la repo-

larización ventricular, jugaba un mínimo papel en la repolarización auricular, tanto en RS como en presencia de FAC. Todos estos cambios demuestran que la FAC promueve la aparición de diferencias entre ambas aurículas en las corrientes que determinan la repolarización auricular, lo que se traduciría en un acortamiento no uniforme en la duración del potencial de acción, que incrementaría la inhomogeneidad en la repolarización auricular y facilitaría la reentrada del impulso cardiaco.

Asumiendo que el remodelado eléctrico auricular es consecuencia de la frecuencia de la activación auricular (15), nuestra hipótesis inicial era que el remodelado debería ser más marcado en la AI, que presenta frecuencias más altas en pacientes con fibrilación auricular paroxística, que en la AD (7, 8). Sin embargo, nuestros resultados sugieren que la FAC modifica de forma muy marcada las propiedades electrofisiológicas auriculares en ambas aurículas, que se ven profundamente afectadas, pero de manera diferente. Este sorprendente resultado sugiere que otros factores, además del aumento de la frecuencia de activación, participarían en el remodelado eléctrico auricular. Sin embargo, debemos señalar que los cardiomiocitos utilizados en este estudio procedían de pacientes con FAC, en los que las frecuencias de activación de la AI podrían no ser muy distintas de las de la AD.

El hallazgo más novedoso de nuestro estudio ha sido que en ambas aurículas, la FAC aumenta la amplitud y densidad de una corriente resistente a 4-aminopiridina, pero sensible a tetraetilamónio, lo que confirma que se trata de una corriente de salida de potasio. El estudio de las características de la cinética de activación de esta corriente y su supresión por HMR-1556 nos permitieron demostrar que se trataba de la I_{Ks} . Este hallazgo es la primera demostración de que la FAC aumenta una corriente de potasio voltaje-dependiente. Hasta ahora, lo que se había descrito es que la FAC incrementa dos corrientes que presentan rectificación interna, pero que son voltaje-independientes: la I_{K1} y corriente constitutiva I_{KACH} agonista-independiente (16-18). La I_{Ks} es una corriente que presenta una cinética de activación muy lenta, razón por la que su papel es pequeño en la repolarización auricular y/o ventricular en pacientes en RS. Sin embargo, esta corriente se deactiva muy lentamente, por lo que a frecuencia rápidas de estimulación (p.ej. durante la FA) la amplitud de la I_{Ks} aumenta de forma progresiva. Este aumento de la I_{Ks} podría jugar un importante papel en el acortamiento de la DPA auri-

cular que se produce en la FAC y promover la conducción fibrilatoria (19). De hecho, se ha demostrado que el aumento de la I_{Ks} acelera la frecuencia de circulación de los rotores auriculares y facilita la conducción fibrilatoria (20). Por tanto, es razonable hipotetizar que la inhibición de la I_{Ks} podría ser una importante diana terapéutica para cardiovertir a los pacientes que se encuentran en fibrilación auricular de reciente comienzo o paroxística a RS (19). De hecho, la propafenona, fármaco que produce un bloqueo frecuencia-dependiente de la I_{Ks} , es uno de los fármacos más efectivos para la cardioversión farmacológica de la FA (19, 21). Por último, quisimos analizar si el aumento de la I_{Ks} se asocia a cambios en la expresión de sus subunidades constitutivas alfa (Kv7.1) y/o beta (MinK), ya que hasta la fecha, los datos referentes a la expresión de Kv7.1 y MinK han sido variables y contradictorios (15,21,22). Nuestros resultados indican que la FAC produce una disminución de Kv7.1 que se acompaña de un marcado aumento de minK.

Además, hemos demostrado que en los pacientes con FAC se produce un aumento de la I_{Ks} , tanto en miocitos de la AD como de la AI y que la estimulación de los receptores β 1-adrenérgicos con isoproterenol produce un aumento de la I_{Ks} , que es mucho más marcada en pacientes con FAC (~80 %) que en pacientes en RS (~36 %). Igualmente, hemos demostrado que la FAC aumenta la expresión del ARNm de los receptores β 1-adrenérgicos, siendo este aumento mayor en la AI que en la AD, lo que sugiere que estos cambios forman parte del complejo remodelado que se produce en la FAC.

La posible repercusión funcional del aumento de la I_{Ks} y de su modulación a través de los receptores β 1-adrenérgicos se estudió analizando los efectos del isoproterenol en tejido auricular de pacientes en RS o con FAC. Pudimos demostrar que en RS, cuando la amplitud de la I_{Ks} es mínima, el isoproterenol aumentaba la corriente de entrada de Ca^{2+} a través de los canales tipo-L (densidad de la I_{CaL}) y prolongaba significativamente la DPA medida al 20 % (DPA₂₀), al 50 % (DPA₅₀) y al 90 % (DPA₉₀) de la repolarización. Por el contrario, en los cardiomiocitos de pacientes en FAC, en los que la densidad de la I_{CaL} está reducida en aproximadamente un 80 % (3), el isoproterenol acortaba la DPA₉₀, incluso a frecuencias de estimulación bajas (1 Hz). Por lo tanto, es de esperar que en pacientes con FAC la activación simpática aumentara las diferencias existentes en la repolarización entre ambas aurículas debido a la mayor contribución

de la I_{Ks} a dicha repolarización en la aurícula izquierda que en la derecha.

Limitaciones del estudio. En primer lugar debemos señalar todas las muestras utilizadas provenían de orejuelas auriculares que podrían no ser representativas de lo que sucede en el resto de la aurícula. En segundo lugar, el remodelado auricular podría haberse visto influenciado por el tratamiento farmacológico y/o la cardiopatía subyacente de los pacientes incluidos en el estudio (11-13,15). Sin embargo, esta limitación se ha soslayado ya que no existían diferencias entre los pacientes en RS o en FAC incluidos en este estudio con respecto a edad o sexo, fracción de eyección ventricular izquierda, presencia de valvulopatías y/o cardiopatía isquémica o el tratamiento con beta-bloqueantes (52.0 % frente al 52.3 %). La única diferencia era la presencia de un mayor diámetros auricular en los pacientes con FAC. Por tanto, las modificaciones descritas en las muestras de pacientes con FAC sólo pueden ser atribuidas a la FA.

CONCLUSIONES

Este es el primer estudio en el que se demuestra que en RS existe una marcada disparidad en las corrientes implicadas en la repolarización auricular en los cardiomiocitos auriculares y que estas diferencias se acentúan en las procedentes de pacientes en FAC. La FAC altera de forma marcada, pero distinta, las corrientes repolarizantes de ambas aurículas, acentuando las diferencias interauriculares. Además, esta es la primera demostración de que la FAC aumenta la I_{Ks} , un efecto que podría jugar un importante papel en el acortamiento de la DPA auricular y en la inducción/mantenimiento de la actividad fibrilatoria.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se realizó gracias a las Becas concedidas por el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC-13), el Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2008-04903) y el Instituto de Salud Carlos III (Red HERACLES RD06/0009 and PI080665 FEDER).

BIBLIOGRAFÍA

1. GELBAND, H; BUSH, HL; ROSEN, MR, et al. (1972). «Electrophysiologic properties of isolated preparations of human atrial myocardium». *Circ Res* 30:293-300.
2. WANG, Z; FERMINI, B; NATTEL, S. (1993). «Delayed rectifier outward current and repolarization in human atrial myocytes». *Circ Res* 73:276-285.
3. PAPAGEORGIOU, P; MONAHAN, K; BOYLE, NG, et al. (1996). «Site-dependent intra-atrial conduction delay. Relationship to initiation of atrial fibrillation». *Circulation* 94:384-389.
4. GABORIT, N; LE BOUTER, S; SZUTS, V, et al. (2007). «Regional and tissue specific transcript signatures of ion channel genes in the non-diseased human heart». *J Physiol* 582:675-93.
5. KOURLIOUROS, A; SAVELIEVA, I; KIOTSEKOGLOU, A, et al. (2009). «Current concepts in the pathogenesis of atrial fibrillation». *Am Heart J* 157:243-252.
6. SWARTZ, MF; FINK, GW; LUTZ, CJ, et al. (2009). «Left versus right atrial difference in dominant frequency, K⁺ channel transcripts, and fibrosis in patients developing atrial fibrillation after cardiac surgery». *Heart Rhythm* 6:1415-1422.
7. SANDERS, P; BERENFELD, O; HOCINI, et al. (2005). «Spectral analysis identifies sites of high-frequency activity maintaining atrial fibrillation in humans». *Circulation* 112:789-797.
8. ATIENZA, F; ALMENDRAL, J; JALIFE, J, et al. (2009). «Real-time dominant frequency mapping and ablation of dominant frequency sites in atrial fibrillation with left-to-right frequency gradients predicts long-term maintenance of sinus rhythm». *Heart Rhythm* 6:33-40.
9. GÓMEZ, R; CABALLERO, R; BARANA, A, et al. (2009). «Nitric oxide increases cardiac I_{K1} by nitrosylation of cysteine 76 of Kir2.1 channels». *Circ Res* 105:383-392.
10. DELPÓN, E; CORDEIRO, JM; NÚÑEZ, L, et al. (2008). «Functional effects of KCNE3 mutation and its role in the development of Brugada Syndrome». *Circ Arrhythm Electrophysiol* 1:209-218.
11. BARANA, A; AMORÓS, I; CABALLERO, R, et al. (2010). «Endocannabinoids and cannabinoid analogues block cardiac hKv1.5 channels in a cannabinoid receptor-independent manner». *Cardiovasc Res* 85:56-67.
12. CABALLERO, R; DOLZ-GAITÓN, P; GÓMEZ, R, et al. (2010). «Flecainide increases Kir2.1 currents by interacting with cysteine 311, decreasing the polyamine-induced rectification». *Proc Natl Acad Sci USA* 107:15631-15636.
13. CABALLERO, R; DE LA FUENTE, MG; GÓMEZ, R, et al. (2010). «In humans, chronic atrial fibrillation decreases the transient outward current and ultrarapid component of the delayed rectifier current differentially on each atria and increases the slow component of the delayed rectifier current in both». *J Am Coll Cardiol* 55:2346-2354.
14. TAMARGO, J; CABALLERO, R; GÓMEZ, R, et al. (2004). «Pharmacology of cardiac potassium channels». *Cardiovasc Res* 62:9-33.

15. MICHAEL, G; XIAO, L; QI, XY, et al. (2009). «Remodelling of cardiac repolarization: how homeostatic responses can lead to arrhythmogenesis». *Cardiovasc Res* 81:491-499.
16. SARMAST, F; KOLLI, A; ZAITSEV, A, et al. (2003). «Cholinergic atrial fibrillation: IK, ACh gradients determine unequal left/right atrial frequencies and rotor dynamics». *Cardiovasc Res* 59:863-873.
17. BOSCH, RF; ZENG, X; GRAMMER, JB, et al. (1999). «Ionic mechanisms of electrical remodeling in human atrial fibrillation». *Cardiovasc Res* 44:121-131.
18. DOBREV, D; FRIEDRICH, A; VOIGT, N, et al. (2005). «The G protein-gated potassium current IK, ACh is constitutively active in patients with chronic atrial fibrillation». *Circulation* 112:3697-3706.
19. DELPÓN, E; VALENZUELA, C; PÉREZ, O, et al. (1995). «Propafenone preferentially blocks the rapidly activating component of delayed rectifier K⁺ current in guinea pig ventricular myocytes. Voltage-independent and time-dependent block of the slowly activating component». *Circ Res* 76:223-235.
20. MUÑOZ, V; GRZEDA, KR; DESPLANTEZ, T; et al. (2007). «Adenoviral expression of I_{Ks} contributes to wavebreak and fibrillatory conduction in neonatal rat ventricular cardiomyocyte monolayers». *Circ Res* 101:475-483.
21. BRUNDEL, BJ; VAN GELDER, IC; HENNING, RH, et al. (2001). «Ion channel remodeling is related to intraoperative atrial effective refractory periods in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation». *Circulation* 103:684-690.
22. LAI, LP; SU, MJ; LIN, JL, et al. (1999). «Changes in the mRNA levels of delayed rectifier potassium channels in human atrial fibrillation». *Cardiology* 92:248-255.

INTERVENCIONES

Prof. Seoane Prado

Resulta evidente de su densa y didáctica exposición el ingente y muy preciso trabajo experimental que ha realizado, que merece nuestra felicitación. Mi pregunta es doble y se refiere precisamente a la metodología experimental: de un lado, el procedimiento empleado para trabajar con células individuales en las medidas de corrientes y potenciales eléctricos y, en segundo lugar, el modo de discriminar para poder medir separadamente cada una de las diferentes corrientes implicadas en la célula sin interferencia de las otras igualmente presentes.

Prof. Berrazueta

Enhorabuena, Prof. Tamargo, por la excelente presentación con la que como siempre nos ha deslumbrado con los resultados de sus investigaciones y su claridad de exposición.

Al hilo de los resultados que muestra de los cambios que acontecen en los canales de Calcio, y que promueven una sobrecarga de calcio cuando se establece la fibrilación auricular, parece que podríamos deducir que el tratamiento tras la conversión de la fibrilación a ritmo sinusal, para estabilizar este ritmo, podrían ser los bloqueadores de los canales de calcio. Sin embargo para este fin, normalmente empleamos los antiarrítmicos tipo II (betabloqueantes) o tipo III (bloqueantes canales de potasio, como Amiodarona). ¿Deberíamos emplear también los bloqueantes de Canales de Calcio (tipo IV) para este fin y ampliar así su uso de bloqueantes de la conducción AV en caso de FA crónica?

XV SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 31 DE MAYO DE 2011

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA

RODRÍGUEZ LAFORA Y LA ACADEMIA
RODRIGUEZ LAFORA'S IN THE ACADEMY

Por el Excmo. Sr. D. LUIS SÁNCHEZ GRANJEL

Académico de Número

**CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES (CTC):
UN NUEVO MARCADOR DE EFICACIA
EN EL TRATAMIENTO QUIMIOTERÁPICO
DEL CÁNCER COLORRECTAL METASTÁSICO**
***CIRCULATING TUMOR CELLS: A NEW EFFICACY
MARKER IN THE TREATMENT OF METASTATIC
COLORECTAL CANCER***

Por el Excmo. Sr. D. EDUARDO DÍAZ-RUBIO GARCÍA

Académico de Número

RODRÍGUEZ LAFORA Y LA ACADEMIA

RODRIGUEZ LAFORA'S IN THE ACADEMY

Por el Excmo. Sr. D. LUIS SÁNCHEZ GRANJEL

Académico de Número

Resumen

Se rehace un capítulo de la biografía de Gonzalo Rodríguez Lafora, su breve y polémica etapa de vida académica: La provisión del sillón vacante a la muerte de Cajal, ignorada por sus biógrafos y que se relata con documentación del Archivo de la Academia.

Abstract

A chapter of Gonzalo Rodriguez Lafora's life is analyzed. His short but controversial academic period (the renewal of Cajal's chair in the Academy after his death) widely ignored by his biographs, is studied, on the light of documentation from the Archives of the Academy.

EL DOCTOR LAFORA

La biografía de Valenciano Gayá (11) y la aportación complementaria de González Moyá (9) permiten recortar el recuerdo de su vida a lo que de la misma puede ser útil para entender el fugaz y esquinado periodo de su vida como académico de número de la Academia Nacional de Medicina, tema no estudiado por sus biógrafos.

Gonzalo Rodríguez Lafora (1886-1971) realizó su formación médica en Madrid; rechazó el método de enseñanza de Amalio Gimeno en su cátedra de Patología General, fiel a la doctrina letamendiana, y su condición de 'estudiante rebelde', como lo calificó Ma-

rañón, le vincula a la docencia de Juan Madinaveitia quien le pondría en relación con Simarro y más tarde con Nicolás Achúcarro, de quienes obtuvo orientación como investigador de la histopatología neuronal y su formación de neuropsiquiatra. La Junta de Ampliación de Estudios le facilitó completar su formación en Alemania.

De regreso en Madrid, Lafora alcanzaría a ser principal representante de la Psiquiatría en el grupo integrante de la 'generación de entreguerras', que yo he propuesto llamar 'generación Marañón', afectada en su momento de mayor esplendor por la guerra civil que llevaría a bastantes de sus miembros a la expatriación.

A su obra como investigador y a la labor clínica, Lafora incorpora un sostenido interés por muy dispares temas problemáticos en la España de su tiempo, recogidos en obras no médicas y una labor periodística en la que destacan sus colaboraciones en el diario madrileño *El Sol*, de la que ofrece relación puntual la obra de Gonzalo Moya.

Especial interés para entender lo singular de su breve vida académica tiene conocer las referencias que se han descrito como peculiares de su temperamento; de 'individualista' y 'polemista' le califica Luis Valenciano y más precisos aún son los datos que Gregorio Marañón recoge en su contestación al discurso de ingreso de Lafora en la Academia (8), donde hace alusión a su obsesiva propensión a la polémica. La visita que hizo Rodríguez Lafora en mayo de 1963 a mi Departamento de Historia de la Medicina en la Universidad de Salamanca, me deparó ocasión de confirmar aquellos rasgos de su personalidad, no amenguados por el exilio y la edad.

Por sus preferencias políticas, Valenciano califica a Lafora como 'liberal progresista', que acoge con esperanza la proclamación de la República en 1931 y no cabe duda participó en el movimiento de 'intelectuales al servicio de la República' encabezado por Ortega y Gasset, Marañón y el novelista Pérez de Ayala. Valenciano reproduce en su biografía de Lafora una carta suya de 6 de mayo de 1930 en la que le confiesa su confianza en la República, todavía esperando que le impaciente por 'su marcha a paso lento'.

Iniciada la guerra civil, Lafora mantiene su puesto profesional en el servicio psiquiátrico del Hospital General; en octubre de 1936 se traslada a Valencia, donde le sería encomendada la dirección de un centro hospitalario militar. En mayo de 1938, según dato que figura en el expediente de su depuración política estudiado por Pérez Peña (10), se traslada a Francia con un permiso militar y el mismo

año llega a México donde reanuda el quehacer asistencial y científico hasta su retorno en 1947.

El proceso que se le incoa el 2 de marzo de 1940 en el Tribunal de responsabilidades políticas (7, 10) se apoya en una denuncia de la Diputación provincial de Madrid de la que dependía su puesto asistencial y el pertenecer a la 'Asociación de Médicos Liberales'. El Tribunal procedió a una incautación de sus bienes, imponiéndole multa de 100.000 pesetas y ocho años de inhabilitación de ejercicio. Indultado el 5 de marzo de 1948, se anula la sanción económica y la inhabilitación profesional profesional y le son devueltos los bienes incautados. Retorna a su plaza en el Hospital Provincial en 1949 y es jubilado al cumplir la edad reglamentaria.

EL ACADÉMICO

En los años veinte Rodríguez Lafora posee prestigio científico y renombre profesional suficientes para aspirar al ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina. La ocasión surge en 1927 cuando la muerte de Ricardo Pérez Valdés deja vacante un sillón en la Sección de Psiquiatría, Medicina Legal y Literatura médica. Aspiraron al puesto académico con Lafora, César Juarros, psiquiatra con obra literaria y Enrique Suñer, catedrático de Pediatría en la Facultad de San Carlos. De lo que sucedió hice mención en un artículo (6); ahora haré referencia limitada a lo que afectó a Lafora.

La Sección encomendó hacer el informe preceptivo a Valle Aldabalde; su texto se puede considerar único en la historia de la Academia por su amplitud y el criterio que le guió en su redacción. Con precisión que quiso fuese exhaustiva, Valle Aldabalde desglosa los méritos de los candidatos en cuatro apartados a los que otorga puntualización individualizada y concede valor similar a méritos muy dispares. Juarros encabeza tres de las puntuaciones, Lafora una y Suñer ocupa en todas, el segundo puesto. Valle concluye el informe proponiendo a César Juarros, decisión que suscriben los miembros de la Sección. La Junta de Gobierno, por votación, desestima el informe otorgando el sillón a Enrique Suñer. Lo que puede considerarse sorprendente encuentra explicación, a mi juicio, si se recuerda que en 1927 Suñer era Consejero de Educación en el gobierno personal de Primo de Rivera.

En 1930, en coyuntura política bien distinta, ahora tras el falle-

cimiento de Espina y Capo y el traslado de Enrique Suñer a Sección más acorde con su especialidad, queda una vacante que permite a Lafora reiterar su deseo de ingresar en la Academia, acompañándolo en este propósito Salvador Albasanz y Verdes Montenegro. Realizada la valoración de méritos, Ángel Pulido, que preside la Sección, con asistencia de Nicasio Mariscal y César Juarros, que había ingresado finalizando el año 1927, la Sección emite el 25 de febrero de 1930 informe favorable a la candidatura de Lafora, criterio que ratifica la Junta de Gobierno; su nombramiento lleva fecha de 25 de febrero de 1930.

En aquella ocasión no se cumplió la norma estatutaria que imponía secreto en las votaciones y de ello da constancia el que se conserven en su expediente académico, escritos favorables a Lafora de Codina Castellví, Tello, Teófilo Hernando y Sarabia y Pardo; favorable fue también el voto de Sánchez Covisa que lo remitió desde Sevilla y el de Ramón y Cajal. El nombramiento fue reseñado por la prensa médica y Sanchís Banús publica el artículo 'Lafora académico' en el periódico *El Sol*, en su número de 9 de marzo.

Rodríguez Lafora retrasó el trámite de recepción en la Academia hasta 1933 y sería requerido a realizarlo en diciembre de 1932 y febrero del siguiente año. El discurso de Lafora sobre fisiología y patología del sueño lo leyó el 14 de mayo de 1933 y la preceptiva respuesta de Gregorio Marañón ofrece un esclarecedor esquema de la labor científica realizada por el nuevo académico incluyendo un juicio certero de su talante, del que queda hecha la mención oportuna.

Cuando Rodríguez Lafora realiza su incorporación a la Academia, la Institución vivía ya inmersa en una grave crisis de enfrentamiento ideológico, que aquí no es necesario analizar (5) y ante la que el nuevo académico mantuvo actitud distante, pero que le iba a conducir, cuando buscó imponer su criterio, a la renuncia voluntaria de su puesto académico. No creo sea digresión ajena a los fines de este estudio recordar cómo desde los mismos inicios del siglo era operante en la vida académica la influencia política.

Responsabilidades ministeriales tuvieron dos Presidentes de la Institución Carlos María Cortezo y Amalio Gimeno; el primero recibió de Alfonso XIII el Toisón de Oro y Gimeno, título de nobleza; Enrique Suñer, queda indicado, se vinculó al régimen de gobierno personal de Primo de Rivera y Gregorio Marañón, por una supuesta participación en una conjura política, sería sancionado por la Dictadura económicamente y sufriría pena de cárcel.

Iniciada la década de los años treinta la instauración de la República alimentó nuevos y dispares movimientos políticos; disturbios estudiantiles, particularmente graves en la Facultad de San Carlos, fraccionó su claustro de profesores y su pertenencia, en buen número, a la Academia, explica afectaran al quehacer de la Institución, y testimonios de esta realidad figuran en actas de la Junta de Gobierno y en el periodismo médico.

Particularmente propicias a la manifestación de aquellas divergencias fueron las sesiones en las que se dirimían por votación nombramientos académicos; ofrecen ejemplos la controversia que desató cuando tuvo que emitirse opinión en la designación de Gregorio Marañón para la cátedra de Endocrinología en 1931; dos años más tarde en la elección como académico de Enríquez de Salamanca y al siguiente año la del ministro de la República José Giral. Hecho significativo del nuevo clima académico, cuya motivación no ha quedado aclarada, es la sorprendente renuncia de Cortezo a los honores que la había otorgado la Academia, incluyendo el abandono de su sillón académico. Estos hechos no solo permiten conocer la partición ideológica del cuerpo académico, pues componen el trasfondo que ayuda a entender lo que sucedió en la Academia al convocarse la plaza que dejaba vacante la muerte de Ramón y Cajal.

Será en aquella ocasión cuando Rodríguez Lafora rompa su actitud indiferente ante la vida académica para protagonizar el más grave suceso vivido en toda la historia de la Institución al patrocinar la candidatura de Pío del Río-Hortega. Lo llevó primero a dar publicidad a acusaciones en buena medida carentes de fundamento con ulterior participación en una lamentable disputa a la que puso término abandonando la Institución antes de cumplirse los dos años de su ingreso en la misma. Si ahondamos en las motivaciones de lo que sucedió en el otoño de 1934, hay que valorar con el enfrentamiento de fidelidades ideológicas, los rasgos temperamentales de Lafora, recordados por sus biógrafos.

LA HERENCIA DE CAJAL

La muerte de Ramón y Cajal en octubre de 1934, abre la más grande crisis vivida por la Academia, la que iba a conducir a Lafora al abandono de la Institución. Antes de finalizar el mes desde el fallecimiento de Cajal, ya se conocen oficiosamente los candidatos

a ocupar el sillón que quedaba vacante y Rodríguez Lafora suscita la polémica con un artículo en *Diario de Madrid*, en su número de 31 de octubre, titulado 'Academia de Medicina. La sucesión de Cajal'. Su texto lo consagra a defender la labor investigadora de Rio-Hortega, que aspira, con el apoyo de su firma, ser su sucesor en la Academia.

Dos partes, bien definidas, integran el artículo; la primera es un reproche anticipado a los que está convencido van a negar su voto a quien considera verdadero continuador de la línea investigadora de Cajal y Achúcarro, y alude, como posibles motivaciones, 'desavenencias y rencillas personales'; 'de algunos, añade, les conocíamos, con estupor, no serles simpático Del Río'.

El criterio de Lafora, fruto del apasionamiento a que le llevó la vehemencia, rasgo de su temperamento, le inspira la segunda parte del artículo, de mayor gravedad, pues en ella hace anuncio, no defendible, de una crítica que amplía a la totalidad del cuerpo académico. Se hace conveniente reproducir en su integridad esta parte del artículo pues ayuda a entender los duros reproches que se hicieron a Lafora en la sesión de la Junta de Gobierno convocada para proceder a elegir el sucesor de Cajal. Esto es lo que escribe Lafora aludiendo a 'la deuda de honor para los hombres que se sientan en la Academia de Medicina... el reconocer y premiar la labor de un auténtico hombre de ciencia... un verdadero discípulo de Cajal'. Y remata así su diatriba: 'Déjese para esos pobres de espíritu que han penetrado en la Academia por puertas excusadas y mediante vergonzosos compadrazgos políticos el bochorno de no votarle'.

Tres días más tarde se convocó la Junta de Gobierno para cumplir el trámite de presentación de candidatos (2). Asistieron 32 académicos que conocieron los nombres de quienes optaban al sillón vacante y sus valedores: Pero Ara (Enrique de Salamanca), Pío del Rio-Hortega (Gonzalo Rodríguez Lafora) y José María Villaverde (Antonio Simonena). El Presidente no admitió debate anunciando nueva convocatoria para el día 5.

Esta segunda sesión (2), cuya transcripción ocupa 10 folios en el libro de Actas, ofrece el testimonio de un largo y tumultuoso debate, único en la historia de la Academia, en el que los 32 académicos asistentes, delegaron formular las acusaciones en Enrique Slocker, Santiago Carro y Antonio María Cospedal; defendió a Lafora Gregorio Marañón. Amalio Gimeno, que presidía, intervino cuando Lafora insinuó una crítica a la actividad de la Institución. Prueba

evidente de la trascendencia de lo sucedido la ofrece la decisión de Nicasio Mariscal, secretario de la Institución, de confirmar la información obtenida por los taquígrafos con solicitud, a quienes intervinieron, de texto escrito que ratificara sus exposiciones orales. Aquella petición solo obtuvo respuesta de Gregorio Marañón.

Resueltos los asuntos de trámite el debate soslayó lo que era tema de la convocatoria, la elección, por votación, de nuevo académico, para centrarse en el contenido del artículo de Lafora publicado en el *Diario de Madrid*. Exigieron lectura de su texto varios académicos y la autorizó el Presidente tras solicitar ‘calma y mesura’, consejo que no sería atendido. Se hace preciso recoger lo fundamental del contenido del acta siguiendo el orden de las intervenciones.

Enrique Slocker, portavoz de un amplio grupo de académicos, críticos con el artículo de Lafora, exigió de su autor una rectificación, que es solicitada por Santiago Carro para que ‘zanje este desgraciado incidente’, afirmando que solo ‘un estado de apasionamiento’ pudo conducir a Lafora ‘a dar publicidad en un diario político, a conceptos que atentan contra el prestigio corporativo y la honorabilidad de los académicos’.

A las intervenciones de Slocker y Carro respondió Gregorio Marañón, quien tras reconocer que su criterio, con respecto a Rodríguez Lafora, coincidía con los formulados, declara mostrarse conforme con el fondo ‘intelectual’ del artículo de Lafora y expresa su preocupación por el mantenimiento de ‘un cuidado exquisito en la selección de los nuevos académicos’, opinión que suponía aceptar la posibilidad de que tal ‘cuidado’ no siempre fue atendido. Marañón aclara su criterio ante lo que realmente debía debatirse, al afirmar que ‘el Dr. del Río-Ortega (sic) sería un candidato admirable para ocupar la vacante que dejó don Santiago Ramón y Cajal’; reconoce Marañón ‘vehemencia’ en el artículo de Lafora pero supone que en el ‘no quiso ofender a ninguno de los Srs. Académicos ni emitir juicio que pudiera redundar en desprestigio de nuestra Corporación’ y pide a Lafora atienda a la rectificación que se le pide ‘como medio de evitar decisiones de académicos perplejos’.

Lo que no esquivo Marañón es exponer, con meridiana claridad, lo próximo que se hallaba de lo expresado con crudeza por Lafora; así creo que ha de entenderse esta afirmación suya: ‘por mi parte quiero declarar que al leer el artículo del Dr. Lafora, no me sentí ofendido ni molesto por su declaración de que pueda haber Académicos que entraron en la Corporación por votaciones irregulares y

apasionadas. Yo no me creo en este caso y no tengo que darme por aludido’.

Esta defensa de Lafora hecha por Marañón buscó rebatirla el cuarto académico que participa en el debate, Antonio María Cospedal, quien acierta al señalar que en la fecha de publicación del artículo de Lafora, no habían sido presentados en la Junta los aspirantes ni oficialmente conocidos sus valedores ni por supuesto haberse celebrado la preceptiva votación. Lo que sigue del parlamento de Cospedal viene a reconocer un grave defecto en la valoración de candidatos, al afirmar que todo aspirante a la condición de académico era considerado capacitado para cualquiera de las Secciones de la Institución, lo que suponía conceder valor diríase universal a su formación profesional o científica.

Este es el núcleo del criterio de Cospedal: ‘un sillón vacante puede ser ocupado por cualquier candidato que la Academia elija para ocuparlo... sin tener en cuenta cual sea su especialización en Medicina’, y conmina a Lafora, lo que no se atrevieron a solicitar ni Slocker ni Carro, que citase ‘con sus hombres propios a los Académicos pobres de espíritu que han penetrado en la Academia por puertas excusadas y mediante vergonzosos compadrazgos políticos’.

Buscando poner término a un enfrentamiento que debió pensar podía agravarse, el Presidente invita a Lafora a que ‘rectifique’ el contenido de su artículo del *Diario de Madrid*. En su respuesta, Rodríguez Lafora, ofrece la rectificación que se le solicita afirmando ‘no ha tenido intención de ofender en su artículo a la Academia ni a sus miembros’, pues había sido su intención ‘señalar los grandes méritos que concurren el Sr. Río-Hortega (sic) y manifestar ‘la injusticia que se cometía al no elegir a dicho Sr. para sustituir a don Santiago Ramón y Cajal’.

En este punto de su intervención, Lafora dio un giro inesperado a su defensa formulando ahora nueva acusación, que ya carecía de relación con lo que estaba siendo tema de debate. ‘No está conforme, apunta ahora, con la marcha corporativa de la Academia... que estuvo a punto de tomar otros rumbos más acertados con la antigua Junta Directiva’, opinión en la que se atisba el recuerdo de una maniobra con la que algunos académicos habían pretendido conseguir, vulnerando una norma estatutaria, un tercer mandato para la presidencia de Sebastián Recasesns.

Amalio Gimeno, que como Presidente se había mantenido distante en la disputa, responde a esta directa crítica a su mandato con

dureza: 'La Junta, le recuerda a Lafora, se ha limitado en todo tiempo a cumplir con todas aquellas cosas a que los Estatutos y Reglamento interior le obligan', y añade este justo reproche recordándole a Lafora 'su apartamiento sistemático a toda labor de la Academia [lo que era cierto] y que ha motivado que hasta la misma Presidencia haya tenido que dirigirse a él, recordándole cuales eran sus deberes como académico'.

De nuevo Gregorio Marañón se considera obligado a reconducir la controversia 'visto el giro que... ha tomado la discusión y más todavía por el que seguramente tomará'; Santiago Carro se muestra 'absolutamente conforme' con la propuesta pero recordando que 'la rectificación del Dr. Lafora habrá de hacerse con la misma publicidad que tuvo el artículo que la motiva'. Puso remate a la sesión la reiteración de Rodríguez Lafora de hacer la rectificación que se le pedía pero añadiendo lo que seguramente nadie esperaba: 'desde aquel momento, dejaba de pertenecer a la Academia».

La sesión concluye sin designar el sucesor de Cajal, acto que se celebró el 17 de noviembre (2), iniciado con el obligado recuento de asistentes, 33 en total; votaron por escrito 7 académicos, entre ellos Marañón y el propio Lafora, a quien se consideró conservaba aún sus derechos académicos por no haber ratificado por escrito su dimisión. La Academia otorga el sillón vacante por la muerte de Cajal a José María Villaverde con veintiún votos, doce fueron favorables a la candidatura de Río-Hortega y los restantes Pedro Ara.

El destino de los tres candidatos fue bien distinto. El asesinato de Villaverde en el verano de 1936 truncó su incorporación a la Academia; Pedro Ara conseguiría el ingreso en la Institución en 1936, y a Río-Hortega la guerra le llevó a un voluntario exilio, pero su nombre seguía siendo repudiado cuando la Academia reanuda su actividad en 1940. En 1945, y en dos ocasiones, el Ministerio de Asuntos Exteriores informó a la Academia sobre los éxitos alcanzados por Río-Hortega en ciclos de conferencias dados en Hispanoamérica, pero aquellas noticias solo encontraron esta displicente respuesta de la Junta Directiva: 'el Dr. del Río no es académico y está fuera de España por desafecto al Movimiento Nacional'.

Gregorio Marañón, cuando todavía estaba vivo el recuerdo del áspero debate que precedió al nombramiento del sucesor de Ramón y Cajal en la Academia, en el mes de diciembre de 1934, responde a una carta del doctor Slocker, que solicitaba su voto para la candidatura de Vallejo Nágera, con esta rotunda negativa: 'no me pare-

ce oportuna su candidatura en el momento actual por dos razones: la primera porque ya hay en la Academia exceso de neurólogos y la segunda y la más importante, es el significado partidista acusadísimo del Dr. Vallejo Nágera, objeción que igualmente extendería a quien fuese declaradamente masón o socialista' esta carta, fechada el 4 de diciembre es testimonio del amargo recuerdo que dejó en Marañón el rechazo de la Academia de Río-Hortega y la razón partidista que guió las decisiones de la Institución.

LA ÚLTIMA BATALLA

Lafora cumple la promesa hecha a la Junta de Gobierno de publicar en el *Diario de Madrid* su rectificación, que aparece el 11 de noviembre con el título 'Por que no se eligió al doctor Río-Hortega en la vacante de Cajal' y en el que repite el error ya cometido en su artículo anterior al dar por realizado un trámite académico, la elección de quien sucedería a Cajal, acto que no tuvo lugar hasta la sesión del día 17.

En este segundo artículo mezcla el arrepentimiento: 'lamento la vehemencia al escribirlo (el de 31 de octubre), pues no deseaba ofender a personas particulares', con una reiteración de lo dicho en la desgraciada sesión de la Junta de Gobierno de 5 de noviembre, pues al hacer ahora referencia a la misma alude 'a la minoría retardataria e indiferente, preocupada solo de acrecentar sus influencias políticas y sociales', lo que realmente supone confirma anteriores acusaciones al grupo de académicos 'que se dejaba guiar por influencias político-religiosas', con el añadido de su propósito de llevar a cabo una 'protesta pública y enérgica contra la forma ligera con que la Academia decide', y descontando miembros 'de enorme valía' en la misma, la juzga 'pobre y anodina'.

El artículo repite su decisión de renuncia al puesto académico notificada por carta a Nicasio Mariscal: 'mi dimisión [le escribe] de académico tiene carácter irrevocable'; 'recabo mi libertad de acción [le añade] para hacer pública crítica sobre las actividades de la Academia' (1). La respuesta de la Institución la recibe en oficio de 27 que recoge la resolución adoptada por la Junta de Gobierno el día 23; la carta de Mariscal concluye con la petición de que remita a la Secretaría la medalla 'que reglamentariamente obra en su poder'.

Este acuerdo de la Junta de Gobierno no le impidió, queda re-

cordado, participar en la votación, derecho que le fue notificado por el Presidente (1). En una reunión posterior de la Junta de Gobierno (2), la de 23 de noviembre, retorna el tema de la decisión de Lafora, repitiéndose la clara división existente en el cuerpo académico, pues mientras Tomás Maestre propone su aplazamiento a la última sesión del año, Santiago Carro defiende su aceptación. El temor a que se repitiese lo vivido el día 5, indujo al Presidente a imponer la votación, con el resultado que era previsible. Se abstuvieron Maestre, Díaz del Villar, Rodríguez Pinilla y Fernández Sanz, y por sus cargos Amalio Gimeno y Nicasio Mariscal. No asistieron a la Junta los académicos, tan señalados por sus opiniones sobre el tema en disputa, Marañón, Pittaluga, Tello, Cardenal y Sánchez-Covisa, entre otros.

Los sucesos vividos en sede académica en el transcurso del mes de noviembre, dada la personalidad científica de Río-Hortega, suscitaron comentarios contradictorios en los dos más leídos periódicos médicos, *Gaceta Médica Española* y *El Siglo Médico*; la primera, en su número de diciembre, mostró prudencia al reconocer en la ‘fuerte polémica entre académicos’ una expresión del clima de apasionamiento del que queda ya hecha referencia; *El Siglo Médico* dejó traslucir, en su comentario, opinión acorde con su línea ideológica. La gravedad de lo sucedido la reconocen ambos periódicos por haber llegado a suscitar ‘estado de prensa’, es decir su difusión en el periodismo político.

Que se dieron muestras de apasionamiento lo confirman no pocos comentarios, y un buen ejemplo lo ofrece el doctor Nogueras cuando al referirse al homenaje a Río-Hortega y Lafora, del que ahora se hará comentario, escribió que en lugar de apartar a Del Río ‘a la paz de su laboratorio’, para mejor protegerlo, sus partidarios hicieron ‘tacto de codos para defender a uno de su cuenta masónica que expende el prestigio y la sabiduría en la profesión médica y de cuyo cacicato madrileño no es este el momento de hablar’.

Partidarios y amigos de Río-Hortega y Lafora organizaron el homenaje que era previsible con un banquete en el Hotel Ritz el 19 de noviembre; de él se hizo difusión en la prensa diaria, destacando *El Sol* y *Diario de Madrid*, que alabaron ‘la actitud decidida y enérgica de Río-Hortega y Lafora’. La relación de firmantes del homenaje reúne sectores profesionales y culturales muy significados y basta para reconocerlo hacer mención de algunas firmas. Del ámbito académico figuran los nombres de Teófilo Hernando, Sánchez-Covi-

sa, Pittaluga y el psiquiatra Fernández Sanz; la ausencia del nombre de Gregorio Marañón, defensor de la candidatura de Del Río-Hortega en la Academia, se puede entender por la actitud distante que quiso mantener ante la ruptura del espíritu de concordia tradicional en la vida institucional.

La Medicina no académica tuvo presencia en el homenaje con la asistencia, entre otros, de Varela Radío, Fernando de Castro y José María Sacristán. Representó a la alta cultura el historiador Américo Castro y al mundo literario *Azorín*, Pío Baroja, Valle-Inclán, Ramón Gómez de la Serna y Federico García Lorca; próximos al mundo político estaban en el homenaje Araquistain y Álvarez del Vayo y los médicos vinculados a la política Negrín y Marcelino Pascua. Nombres que creo también merecen ser recordados, son los de Fernando Vela, *Corpus Barga*, Cipriano Rivas Cherif y el caricaturista Bagaría.

Habló en el acto, con el homenajeado, entre otros, Valle Inclán. El texto de la interpretación de Lafora lo reprodujo *El Sol* en su número de 20 de diciembre, y no desperdició la ocasión de repetir lo expuesto en su artículo en *Diario de Madrid*. Fue dura su requisitoria a la Academia y suyo es el texto que alude a las 'eminencias incompetentes' que elevadas a puestos de responsabilidad padecen complejo de inferioridad y temerosos de quedar en la sombra, se niegan a reconocer el mérito de los hombres de valor...; hombres incapaces y cucos a los que han caído prematuramente en una decrepitud espiritual'.

Un hecho tuvo especial repercusión en la vida académica, que ahora solo puede ser objeto de mención, aunque sus consecuencias tuvieron largo recorrido; Carlos Jiménez Díaz, en 1934 académico correspondiente, llamado a ser de número en la primera ocasión en que hubiera sillón vacante, asistió al homenaje y su identificación con Pío del Río-Hortega le llevó a hacer renuncia de la categoría académica que ostentaba; la Academia realizó sucesivos intentos para conseguir retornase a la Institución, pues había creado una incómoda situación a la Academia, que no se lograría vencer hasta 1956.

El abandono de la Academia por Lafora dio origen a un último episodio. Iniciado el mes de diciembre, en su primera sesión (2), se presentaron candidatos para la plaza que dejó vacante Rodríguez Lafora; Enrique Slocker propuso al psiquiatra Vallejo Nágera, Vicente Gimeno a Víctor María Cortezo y Leonardo de la Peña a Pedro Ara. Gustavo Pittaluga suspendió aquella tramitación apoyándose en una disposición transitoria de los Estatutos, pero la votación llegó a rea-

lizarse en la última sesión del año (2), siendo elegido Víctor María Cortezo.

Resta por recordar, en este examen de la fugaz presencia de Rodríguez Lafora en la Academia, su pretensión de hacer realidad el examen crítico de la vida institucional reiteradamente anticipado en textos que ya han sido objeto de referencia. Hay que anticipar el fracaso de su resultado y el decepcionante ámbito de la vida académica que eligió. Cuando cabía esperar que su crítica se orientase, como anticipó, al propio desarrollo del quehacer académico, ahondando en su denuncia al criterio de elección de miembros establecido en los Estatutos, Lafora se limitó a reclamar de la Secretaría documentos referidos la gestión económica.

Este episodio final de su relación con la Academia queda atestiguado en una correspondencia mantenida con Nicasio Mariscal, secretario perpetuo. Una carta de Lafora de noviembre de 1934 (2) denuncia que en la Memoria correspondiente a 1933 no figuraba relación de ingresos y gastos, y escribe sobre ello en su carta: 'deseo hacer un análisis lo más objetivo posible de la obra de la Academia en los dos años de mi permanencia como académico'. La respuesta de Mariscal (2) hace referencia a lo estipulado en el artículo 32 de los Estatutos y le aclara que la presentación de información económica se realizaría en la primera sesión del año académico 1935 y que un extracto de la misma le fue remitido a todos los numerarios.

La respuesta de Lafora fue inmediata (1) y en ella informa a Mariscal que en sus dos años de académico no le había llegado información alguna como tampoco los discursos inaugurales y le añadía lo que puede considerarse como una amenaza ante lo que consideraba obstáculos legalistas a derechos que le otorgaba su condición de académico: 'creo que será peor que V. insista en esa actitud, en vez de permitir el examen libre de los presupuestos', y añade: 'no voy a rebuscar, como V. parece suponer, imaginarias inmorales administrativas...; mi finalidad... es muy otra, y tenga por seguro que podré realizarla extraoficialmente si me lo propongo'. Ante aquella respuesta y su implícita amenaza, Mariscal consideró debía notificarlo a la Junta Directiva (2), la que daría respuesta que puso término a la reclamación de Lafora. Mariscal trasladó la resolución de la Directiva en carta (1) a la que pertenece este texto: 'La Junta acordó ratificar cuanto el Sr. Secretario perpetuo contestó a Vd.'

No hay referencia alguna en el expediente administrativo de Rodríguez Lafora que permita suponer mantuviera ulteriores exigencias

o que estas se orientasen a campos distintos de la vida institucional de la Academia. Resulta triste este amargo final a la presencia de Gonzalo Rodríguez Lafora en la Institución, siendo una de las personalidades más representativas de la 'generación' Marañón. La guerra civil, que ya se intuía como epílogo de enfrentamientos políticos trasladados al ámbito académico, alejó a Lafora de España y a su regreso su corta vida académica era ya retazo de un pasado hecho historia.

FUENTES Y BIBLIOGRAFÍAS

A) Fuentes

1. Arch. Expediente administrativo del Dr. Gonzalo Rodríguez Lafora.
2. *Actas de Juntas de Gobierno*. 2, v, 1931-34; 22, XII, 1934.

B) Bibliografía

3. DÍAZ-RUBIO, MANUEL (2000). 'Gonzalo Rodríguez Lafora (1886-1971)'; *100 Médicos Españoles del siglo XX*, 168-69; Madrid 2000.
4. GRANJEL, LUIS S. (2008). 'Los años treinta'; *Historia de la Real Academia Nacional de Medicina*, 284-90; Madrid 2008.
5. GRANJEL, LUIS S. (2008). 'La Academia «años treinta»'; *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, 125:79-90 (2008)
6. GRANJEL, LUIS S. (2009). 'Tres candidatos y un sillón'; *Boletín de la Real Academia Nacional de Medicina* (2009); 2-15.
7. GUERRA, FRANCISCO (2003). *La Medicina en el exilio republicano*, 157-68, 581; Alcalá 2003
8. MARAÑÓN, GREGORIO (1933). *Contestación al discurso de recepción de Gustavo Rodríguez Lafora en la Academia Nacional de Medicina*, 37-52; Madrid 1933.
9. MOYA, GONZALO (1986). *Gonzalo R. Lafora. Medicina y Cultura en una España en Crisis*, Madrid 1986.
10. PÉREZ PEÑA, F. (2005). *Exilio y depuración política en la Facultad de Medicina de San Carlos*, 132-42; Madrid 2005.
11. VALENCIANO GAYÁ, L. (1977). *El doctor Lafora y su época*, Madrid.

INTERVENCIÓN DEL PROF. SANTIAGO MARTÍNEZ-FORNÉS

Al comienzo de su Conferencia, excelente por la documentación que aporta y por el riguroso análisis de la misma, define muy acertadamente la personalidad del Prof. Lafora afirmando que «tuvo una vida azarosa».

Yo —que tuve el privilegio de conocerle— comprobé que en la distancia corta era una persona bondadosa, siempre que no se tocasen determinados temas.

En las distancia larga surgía siempre la polémica de su Jefatura del Servicio de Psiquiatría en el Hospital General, el Sillón de la Real Academia y la primera Cátedra de Psiquiatría en España creada para el Prof. Vallejo Nájera.

Su «vida azarosa» irrumpió en la Psiquiatría nacional como un potro desbocado.

La Sociedad española contemplaba atónita el triste espectáculo de «guerra civil» entre muy ilustres personalidades que tenían por oficio —precisamente— devolver la libertad interior, el control de emociones y pasiones, enseñarnos a saber estar y cuidar el respeto al otro.

Trasladando —incluso— a toda la sociedad esta terapia.

En el último Congreso Mundial de Psiquiatría que presidió el Prof. Llaveró, con las aguas ya algo más tranquilas, pero con la amenaza de que un pequeño grupo muy radicalizado de Psiquiatras leyese un Manifiesto condenando a los Psiquiatras rusos que —según ellos— ingresaban a algunos disidentes ideológicos para tratamiento psiquiátrico.

El Prof. Llaveró me rogó —con dos días de anticipación— que pronunciase unas amables palabras de despedida.

Amables fueron pero no pude resistir la tentación de señalar el peligro de convertir el «ODIUM THEOLOGICUM» de los tiempos de SERVET y LUTERO en «ODIUM PSIQUIATRICUM».

En mis largos e imborrables diálogos con don Pedro Laín —padrino de mi hija Alba— siempre tuve el palpito de que el escándalo con el que la Sociedad Española contemplaba el escenario de los grandes Maestros de la Psiquiatría —por otro lado, insignes Intelectuales— fue determinante para que el Maestro Laín abandonase su vocación primera de Psiquiatría para dedicarse por entero al cultivo de la Historia de la Medicina, de la Ciencia y de la Filosofía, que tanto ha contribuido al prestigio intelectual de España.

Por delicadeza nunca intenté salir de dudas.

Este mes —junio 2011— hace 10 años que falleció don Pedro Laín.

Hagamos nuestros los versos que me dedicó Jorge Luis Borges para aliviar mi luto.

«Eres nube, eres mar, eres olvido.

Eres, también, aquello que has perdido».

**CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES (CTC):
UN NUEVO MARCADOR DE EFICACIA
EN EL TRATAMIENTO QUIMIOTERÁPICO
DEL CÁNCER COLORRECTAL METASTÁSICO**

***CIRCULATING TUMOR CELLS: A NEW EFFICACY
MARKER IN THE TREATMENT OF METASTATIC
COLORECTAL CANCER***

Por el Excmo. Sr. D. EDUARDO DÍAZ-RUBIO GARCÍA

Académico de Número

Resumen

El desarrollo de metástasis en el cáncer colorrectal es el resultado de un proceso complejo al final del cual las células cancerosas se desarrollan en órganos a distancia. La penetración de las células tumorales en la circulación es un hecho clave en dicho proceso por otro lado común para todos los tumores. La detección de las células tumorales circulantes (CTC) en sangre periférica puede tener interés clínico en tres aspectos: 1) como evidencia de una diseminación, y por tanto como un marcador de recurrencia, 2) como factor de riesgo en la progresión y por tanto como indicador de mal pronóstico, y 3) como marcador predictivo de respuesta al tratamiento.

Abstract

Colorectal cancer metastasis is the result of several interacting processes at the end of which cancer cells survive in distant organs. Penetration of primary tumor cells into blood is central to the whole phenomenon of metastasis and is a common step in all cancer types. The detection of circulating tumor cells (CTC) in peripheral blood of patients with colorectal cancer could have clinical usefulness in three aspects: 1) as evidence of early dissemination, and then as a risk factor of clinical recurrence, 2) as a relevant

risk factor for metastatic progression and worse prognosis, and 3) as predictive marker of response to treatment.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad caracterizada porque en su evolución el tumor primario acaba desarrollando metástasis a distancia en diferentes órganos, siendo esta la causa de la mayoría de los fallecimientos. Para que lo anterior se produzca es preciso que las células tumorales desprendidas del tumor primario entren en la circulación sanguínea desde donde son distribuidas a los pulmones, hígado, huesos, etc. A estas células tumorales se las denomina Células Tumorales Circulantes (CTC) y a aquellas que consiguen llegar a los órganos a distancia células tumorales diseminadas (CTD). Si las células circulan en la sangre en micro-émbolos se las conoce como CTM (1).

Aunque las CTC son conocidas desde hace muchos años (2) no ha sido sino hasta hace muy poco tiempo cuando gracias a las modernas técnicas de detección y cuantificación se les ha prestado atención.

Para que estas células se desprendan del tumor primario y entren en la circulación deben ganar funciones y para ello deben sufrir una transformación epitelio-mesénquima (EMT) durante la cual pierden marcadores epiteliales (como la cadherina), adquieren propiedades y formas de células mesenquimales, presentan mayor movilidad y capacidad de invasión, y migran en los vasos sanguíneos como CTC (3-6).

Por otro lado diversos estudios han mostrado claramente que el nivel de las CTC en sangre se correlaciona directamente con la supervivencia libre de progresión (SLP) y con la supervivencia global (SG) en el cáncer de mama (7-10), cáncer próstata (11-16) y cáncer de colon (17-20). Todo ello conlleva que su determinación en el contexto clínico puede ser de utilidad no sólo como factor pronóstico de la enfermedad sino también como factor predictivo de la respuesta a los tratamientos quimioterápicos.

TÉCNICAS DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS CTC

La detección de las CTC en sangre periférica se ha basado en el análisis de marcadores superficiales que dichas células expresan o en

el estudio de su código genético. En cualquier caso requiere utilizar métodos que presenten una alta sensibilidad y especificidad. En relación a la sensibilidad es preciso tener presente que en 1 ml de sangre puede haber solo unas pocas CTC, frente a 10 millones de leucocitos y 5 billones de eritrocitos. En cuanto a la especificidad es necesario evitar confusiones con células no tumorales lo que puede llevar a errores de interpretación. Los métodos utilizados son los denominados *indirectos* (inmunomediados y moleculares) y los *directos* (análisis histopatológico y análisis genómico). Cada una de ellas tiene sus ventajas y sus limitaciones (21-22).

Técnicas Indirectas

Las técnicas indirectas más utilizadas han sido fundamentalmente dos: las basadas en métodos inmunomediados de células previamente enriquecidas por separación inmunomagnética, o por métodos físicos (separación por gradiente de densidad y separación por filtración) y las realizadas por análisis moleculares de PCR (PCR-RT) (1, 21).

En el primer caso, los métodos inmunomediados conllevan dos fases diferenciadas: la fase de enriquecimiento y la fase de detección de las CTC.

El enriquecimiento por métodos físicos aunque utilizado no ha sido validado suficientemente. En el caso de la separación por gradiente de células mononucleadas diversos «kits» (Lymphoprep y OncoQuick) permiten separar por centrifugación los eritrocitos, neutrófilos, gradiente densidad, células mononucleadas y plasma, si bien la migración de las CTC desde el gradiente de densidad al plasma contamina los resultados. En cuanto a la filtración utiliza membranas de policarbonato que elimina las células más pequeñas como son las células sanguíneas.

La separación inmunomagnética es la más utilizada y concretamente el sistema CellSearch de Veridex.

El método «Cell Search» de Veridex.—El sistema denominado CellSearch (Veridex, Raritan, NY) está basado en la utilización de técnicas de bandas inmunomagnéticas que utilizan anticuerpos frente a moléculas de adhesión celular de tipo epitelial (EpCam), de modo que sólo las células que presentan dichas moléculas son separadas (fase de enriquecimiento). Posteriormente con el «CellSpotter Analyzer» se añaden varios reactivos fluorescentes para identificar que

dichas células presentan núcleo (con DAPI: 4',6-diamidino-2-fenilindol), y anticuerpos frente a las citoqueratinas 8, 18 y 19 (para demostrar que son de naturaleza epitelial). Además se hace una selección negativa añadiendo CD45 para identificar los leucocitos. El observador puede así a través de una pantalla de ordenador diferenciar según las tinciones y formas las células candidatas a ser CTC. Allard y cols (23) evaluaron la precisión y reproducibilidad de este nuevo sistema de detección. Realizaron el aislamiento y cuantificación de las CTC en sujetos sanos y establecieron la detección de ≥ 2 CTC en 7,5 ml de sangre como anormal. Por otro lado nosotros hemos podido demostrar que no existe un ritmo circadiano (24) en la producción de células circulantes tumorales, lo que sin duda facilita la toma de muestras a cualquier hora del día.

El sistema CellSearch ha sido validado por varios centros en Estados Unidos y Europa (25). Un estudio reciente mediante esta técnica ha mostrado que la detección de células circulantes tumorales en sangre periférica de cáncer de mama, permite predecir el intervalo libre de progresión y la supervivencia global, así como la respuesta al tratamiento antineoplásico hasta 3-4 semanas tras el inicio de éste (7-10). Resultados muy similares han sido encontrados en el cáncer de próstata (11-16) y en el cáncer de colon (17-20). Por otro lado se ha demostrado que el sistema CellSearch tiene una alta precisión con una elevada concordancia entre centros, lo que le posiciona como una técnica semiautomática, estandarizada y reproducible que actualmente está aprobada por la FDA para la detección de células tumorales circulantes en cáncer de mama, colon y próstata (25, 26).

Una de sus notables ventajas es que la determinación de las CTC puede ser realizada con una única extracción de sangre periférica (sólo 7.5 ml de sangre) y que se dispone de 72 horas para su análisis. Como contrapartida este sistema es caro tanto en su adquisición como en su mantenimiento, precio de los «kits», y personal necesario, el cual debe estar perfectamente entrenado.

Desde un punto de vista técnico su mayor crítica reside en que los anticuerpos utilizados intentan identificar las células de naturaleza epitelial, pero las CTC pueden haber perdido dichas características en la transición epitelio-mesénquima (3-6). Por otro lado no todas las CTC son capaces de generar metástasis. En resumen que puede haber falsos positivos y falsos negativos. Finalmente añadir que en los tumores diseminados tan sólo el 30-60% (dependiendo del

tipo de tumor) de los pacientes presentan CTC en sangre periférica. Para solucionar estas limitaciones ya han comenzado estudios con este sistema incorporando nuevos marcadores (14) que puedan definir con mayor precisión las características de las células que queremos determinar. Entre ellos están el Her2, ER, AR, PTEN, EGFR, IGFR, MET, AKT, ERK, VEGFR, etc.

El método indirecto de la RT-PCR

La detección de CTC por PCR convencional de la reverso transcriptasa (RT-PCR) analiza genes específicos de células epiteliales y tejidos: tipo CEA, y CK 19 o 20. Su ventaja es la alta sensibilidad y la alta especificidad de los genes estudiados. Sus limitaciones vienen dadas porque: 1) destruyen las CTC y no se pueden contar, 2) la elección del transcrito de RNA es difícil, 3) puede haber falsos positivos por contaminación (DNA genómico vs cDNA) y 4) por las dificultades que aparecen a la hora de hacer una selección adecuada de los marcadores de mRNA (1, 21, 22, 27). No obstante puede tener un gran valor si en el futuro se caracterizan bien los marcadores a utilizar para identificar no solo las CTC sino incluso las «stem cells» tumorales como más adelante se comenta.

Técnicas directas

Los métodos directos intentan identificar y diagnosticar las CTC utilizando análisis histopatológicos o análisis del genoma celular (FISH, CGH, análisis de mutaciones). Por el momento plantean ciertas dificultades al carecer de marcadores con sensibilidad y especificidad suficiente, pero indudablemente tienen un gran potencial. La utilización de plataformas de microfluidos (el «chip de CTC») podría ser una elegante y eficaz tecnología si bien necesita una amplia validación para su utilización en el contexto clínico (21).

EL CÁNCER COLORRECTAL METASTÁSICO (CCRm)

El cáncer colorrectal (CCR) constituye hoy en día un importante problema epidemiológico de modo que cuando se analizan conjunta-

mente hombres y mujeres se convierte en la primera causa de cáncer en España. Según la Agencia Internacional frente al Cáncer (informe Globocan de la WHO) su incidencia en nuestro país fue de 20.948 casos para el año 2008, lo que produjo 11.655 muertes en ese año.

La quimioterapia del CCR incluye la utilización de fármacos «clásicos» como el 5-Fluorouracilo, la Capecitabina, el Oxaliplatino y el Irinotecán, y los más modernos agentes basados en dianas moleculares. Estos últimos pueden estar dirigidos frente a las células tumorales, concretamente frente el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), como es el caso del Cetuximab y del Panitumumab, o frente a células estromales responsables de la angiogénesis mediante el bloqueo del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) como el Bevacizumab (28). Hoy por hoy el único marcador predictivo introducido en la clínica es la mutación del KRAS, de modo que solo los pacientes que tienen un KRAS no mutado pueden ser tratados con fármacos anti-EGFR. Adicionalmente se están estudiando otros marcadores de la vía EGFR, como el BRAF, PI3K, PTEN, AKT, los ligandos epirregulina y amfiregulina y la expresión del número de copias del EGFR, si bien todos ellos están en el contexto de la investigación (29).

Mas allá del KRAS (cuando se utilizan fármacos anti-EGFR), hoy por hoy no sabemos predecir los pacientes que van a responder. Así por ejemplo mientras en algunos la posibilidad de obtener una respuesta es muy elevada (por encima del 80%), con supervivencias por encima de los 2 años, y un claro beneficio clínico, con opción de segunda y tercera línea, e incluso la posibilidad de un rescate quirúrgico; en otros es difícil obtener una respuesta, el tiempo a la progresión y la supervivencia son cortos y desarrollan toxicidad. De lo anterior se deriva la necesidad de hacer una selección adecuada de los pacientes, que por el momento está basada en la pericia clínica y en la experiencia.

Es preciso tener presente que en el CCR metastático, los modernos tratamientos de quimioterapia junto a las nuevas dianas no solo aumentan la supervivencia y la calidad de vida, sino que en muchas ocasiones permiten integrar una cirugía de las metástasis que pueden deparar excelentes resultados a largo plazo; pero al mismo tiempo son fármacos enormemente caros y que pueden tener efectos secundarios severos, por lo que una selección adecuada de pacientes aumentaría la eficacia y la eficiencia.

LAS CTC Y EL CCR

Desde una perspectiva clínica, la detección de las CTC en cáncer colorrectal (CCR) puede tener importancia pronóstica y ayudar a los clínicos en las decisiones terapéuticas (valor predictivo), ya que la presencia de las CTC puede representar un indicador temprano de recaída o de enfermedad diseminada.

Cáncer Colorectal metastático (CCRm)

Allard y cols (23), analizaron la presencia de las CTC con el sistema «CellSearch» en voluntarios sanos, en pacientes con enfermedades no malignas y enfermedades malignas, pudiendo establecer que la presencia de ≥ 2 CTCs se encontraba solo presente en los casos con tumores epiteliales malignos y que esto ocurría en el 30% de los pacientes con cáncer colorrectal avanzado.

Utilizando el mismo sistema, Cohen (30) observó que la cuantificación de CTC > 2 en la sangre estaba presente en el 31% de los pacientes con CCRm, observando un descenso de las mismas tras el tratamiento quimioterápico. El propio grupo de Cohen y cols (30) demostró la utilidad de este método en 50 pacientes con CCR avanzado, de los cuales en 17 se dispuso de tejido fresco para poder comparar las CTC con las características de las células tumorales «in situ». Este estudio es esencial ya que demostró que las CTC pueden ser aisladas y contabilizadas. Estos estudios seminales dieron pasos a otros más amplios que se comentan a continuación.

Un estudio posterior (17, 18, 31) fue realizado de manera multicéntrica y prospectiva en un grupo heterogéneo de 430 pacientes con CCRm que estaban siendo tratados en primera, segunda y tercera línea de quimioterapia. Encontró que en un 26% había mas de 2 CTC (≥ 3 CTC) y demostró que el nivel de las CTC antes del tratamiento y en diversos momentos en la evolución era un factor pronóstico independiente para la SLP (4.5 m en los que tenían ≥ 3 CTC frente a 7.9 meses cuando tenían < 3 CTC) y para la SG (9.4 meses frente a 18.5 meses respectivamente). El estudio multivariable que incluyó la edad, el «performance status», la línea de tratamiento y el tipo de quimioterapia confirmó el valor de un nivel de corte de ≥ 3 CTC. Por otro lado los pacientes que conseguían tras la quimioterapia normalizar la cifra de CTC tuvieron una mejor SLP y SG que los que no lo hicieron.

En nuestro laboratorio hemos podido confirmar que el sistema Veridex es una tecnología sencilla y reproducible (32). Nosotros hemos estudiado la correlación entre variables clínicas y patológicas con las CTC (20) en 97 pacientes con CCR y en 30 voluntarios sanos. Dado que el estudio de Allard (23) había establecido que los voluntarios sanos no presentaban ≥ 1 CTC consideramos como punto de corte ≥ 2 CTC, valor que confirmamos en nuestra cohorte de voluntarios sanos. Se encontró una elevación de las CTC por encima del punto de corte elegido en 34 de los 94 pacientes (36.2%), y no se encontró correlación alguna con la localización del tumor primario, el aumento del CEA, el nivel de LDH o el grado de diferenciación. Por el contrario sí hubo correlación con el estadio de la enfermedad (21% en estadio II, 24% en estadio III y 61% en estadio IV, $P = 0.0005$).

El estudio CAIRO 2, realizado en Holanda (Tol (19), investigó el valor de las CTC con el sistema «CellSearch» en 467 pacientes con CCR avanzado tratados en primera línea con quimioterapia y agentes biológicos. Las CTC se analizaron de manera basal y en diferentes momentos del curso del tratamiento y los pacientes fueron estratificados para el análisis de las CTC en dos grupos: nivel bajo de CTC < 3 y nivel alto de CTC ≥ 3 . En 129 pacientes (29%) se encontró un nivel alto de CTC y en ellos se objetivó disminución estadísticamente significativa en la SLP y en la SG tanto en los análisis de determinación basal como durante el tratamiento. Pudo demostrarse además su correlación con la respuesta medida por las técnicas de imagen como el TAC, mostrándose que la utilización conjunta de ambas era superior a cada una de ellas utilizada por separado.

En el grupo Español TTD (Tratamiento de Tumores Digestivos) (33) hemos llevado a cabo un análisis de las CTC con el sistema «CellSearch» en pacientes tratados según el protocolo MACRO (34) con quimioterapia tipo XELOX + bevacizumab. Se obtuvo una muestra sanguínea de 180 pacientes en el momento basal, tras el tercer ciclo y a la progresión. Se hizo un análisis de corte de ≥ 3 CTC y otro de ≥ 2 CTC. En un 47% de los casos se objetivó unas CTC ≥ 3 , cifra algo superior a la comentada en los estudios previos, lo que puede estar en relación con las características de los pacientes o a una interpretación más afinada por parte de nuestros investigadores. Confirmamos igualmente su correlación con la SLP y la SG (33).

Por último señalar que un meta-análisis (35) realizado sobre 36 estudios que incluían 3094 pacientes con cáncer colorrectal en di-

versos estadios (desde estadio I a estadio IV) el nivel de CTC en sangre periférica (analizado por diversas tecnologías) se relacionaba con la supervivencia libre de recurrencia (HR = 3.24) y la SG (HR = 2.28). Por el contrario no se encontró relación cuando la determinación se llevaba a cabo en la médula ósea o en la sangre mesentérica o portal.

Cáncer Colorrectal localizado

En el CCR localizado se ha demostrado (por RT-PCR) que la presencia de CTC es un factor predictivo de recurrencia en pacientes operados de un tumor primario (36). Así el estudio de Allen-Mersh analizó en 196 pacientes con CCR por RT-PCR la expresión de mRNA para el CEA y la citoqueratina 20 en la sangre antes y después de la cirugía de resección del tumor primario. Encontró una baja probabilidad de recurrencia para el subgrupo de pacientes con ganglios linfáticos negativos, llamando la atención sobre su posible utilidad para excluir el tratamiento adyuvante con quimioterapia. Sin embargo otros estudios utilizando la RT-PCR no han sido capaces de encontrar un valor pronóstico (37, 38). Las discrepancias de lo anterior pueden ser debidas a diversos factores: un tamaño muestral pequeño, falsos positivos, mRNA derivado de CTC apoptóticas o necróticas, expresión de citoqueratinas por el tejido tumoral, etc. (39). Además esta tecnología presenta importantes problemas de reproductibilidad.

Un reciente estudio (27) ha analizado por RT-PCR el nivel de mRNA en sangre mediante marcadores genéticos tipo CEA/CK19-20/CD133. Se incluyeron 735 pacientes con estadios A, B y C de Dukes (420 de manera retrospectiva y 315 de manera prospectiva). La SLP y la SG fueron peores en los pacientes con marcadores positivos ($p < 0.001$) en los estadios B y C, pero no en los estadios A. Además el análisis multivariable demostró su valor independiente. Dado que el marcador CD133 se relaciona con las células madre del CCR, el valor de la RT-PCR podría ser superior a la técnica «CellSearch», que en definitiva separa por moléculas EpCAM las cuales podrían perderse en la transición epitelio mesénquima.

Por último el grupo español TTD conjuntamente con la RTICC (Red de Centros de Cáncer) ha analizado el nivel de las CTC en 500 pacientes con estadio III con el objetivo de establecer una correla-

ción con la SLP y la SG para conocer su potencial como predictivo de la necesidad de una quimioterapia adyuvante. Sus resultados se esperan para dentro de dos años.

EL CONCEPTO DE «STEM CELLS»: ¿Cambian las cosas?

Durante muchos años se ha sostenido que las células tumorales eran el resultado de una proliferación desmesurada celular con motivo de mutaciones que generaban una alteración en la señalización celular por activación de oncogenes y la supresión de genes supresores. De esa manera las células malignizadas daban lugar a células hijas que a su vez se dividían; generando primero el tumor primario y posteriormente las metástasis a distancia. Sin embargo y a pesar de que se han desarrollado tratamientos específicos frente a las más importantes vías de señalización los resultados obtenidos han sido mediocres. Incluso aunque en la enfermedad diseminada se puedan obtener en algunos casos respuestas brillantes con la quimioterapia, estas suelen ser de corta duración y generalmente destinadas al fracaso a corto, medio o largo plazo. Por otro lado los tejidos son sometidos a las órdenes de la renovación tisular, de modo que incluso admitiendo que las células tumorales maduras se pueden dividir, en pocos días o semanas, desaparecerían.

Todo lo anterior, junto a las evidencias preclínicas en tumores animales y la caracterización molecular de las células tumorales, ha llevado a la teoría de que las células responsables del desarrollo tumoral maligno son las células madre o «stem cell» (3, 40). El porcentaje de estas células es pequeño, menor del 1 % de las células de un tejido o del seno de un tumor. Estas células están sometidas a una organización jerárquica de modo que dan lugar a células progenitoras que a su vez se pueden dividir en células proliferativas rápidas y finalmente en células diferenciadas. Lo anterior se ha comparado a un árbol (41), donde la base del tronco serían las células madre. Estas células son muy pocas y se dividen raramente, y cuando lo hacen se dividen en dos células: una que será a su vez célula madre (autorrenovación) y otra que actuará como amplificadora (división asimétrica). Estas últimas células corresponden a las ramas del árbol, se dividen rápidamente, de manera simétrica y sus células hijas dan origen a más ramas del árbol. Finalmente las células últimas son las diferenciadas y corresponden a las hojas del árbol y

salvo raras ocasiones (por ejemplo los hepatocitos) no se dividen (neuronas, leucocitos, epitelio intestinal, etc). Finalmente se caen las hojas lo que equivale a la apoptosis celular. Mientras que las hojas de un árbol se caen una vez al año; los tejidos y por tanto las células se renuevan en días o semanas por lo que las mutaciones que estas células han adquirido se pierden.

De este modo una masa tumoral estaría constituida por un 99% de células maduras (proliferativas rápidas o diferenciadas), sensibles a la quimioterapia, pero incapaces de generar células madre o progenitoras. Por el contrario las células madres (1%) son en su mayoría quiescentes (en G0), inmortales, capaces de autorrenovarse, tienen expansión clonal, adquieren nuevas mutaciones, tienen gran capacidad metastática, potencial de múltiples linajes diferenciadores y lo más importante son resistentes a la quimioterapia y a la radioterapia. De lo anterior se desprende que las CTC que tienen capacidad de producir metástasis deberían ser células madre. Por lo tanto es crítica su identificación, y para ello los marcadores a utilizar deberían ser no tanto los relacionados con células epiteliales exclusivamente, sino con células progenitoras. En este sentido se ha sugerido que un marcador tipo CD44 puede ser de interés, si bien plantea el inconveniente de que este marcador es compartido por las células madre hematopoyéticas. Por el contrario el marcador CD133 se encuentra en células madre de numerosos órganos pero no en las sanguíneas. Su utilización conjunta con otros marcadores para citoqueratinas (CK) y para antígeno carcinoembrionario (CEA) tiene un enorme potencial (4). Por otro lado cabe esperar que las técnicas de «microarrays» y la proteómica puedan definir firmas genéticas que permitan identificar estas células en el futuro. En las CTC y por ende en las CTD lo importante son las mutaciones (acumulaciones) que se van adquiriendo poco a poco y por supuesto el microambiente estromal: teoría sobre las semillas (seeds) y el terreno (soil).

Un reciente estudio llevado a cabo en Japón (27) ha mostrado una interesante correlación entre los niveles de mRNA de CEA/CK/CD133 medidos por RT-PCR y la supervivencia libre de enfermedad y SLP y la SG en pacientes con estadios B y C de cáncer colorrectal. Su papel pronóstico está fuera de toda duda, si bien en el futuro deberá analizarse su papel discriminador para decidir la utilización o no de una quimioterapia adyuvante.

La identificación de las «stem cells» como directoras de orquesta y como responsables del proceso neoplásico y de la diseminación,

abre nuevas vías de enfoque diagnóstico y terapéutico del cáncer. Curiosamente las vías de señalización responsables de las características de las «stem cells» han sido hasta ahora pocos exploradas. Entre ellas incluyen las vías Hedghog, Notch, PTEN, BMI-1, WNT y p53 (40).

CONCLUSIONES

En conclusión, puede afirmarse que la determinación de las CTC tiene utilidad para establecer el pronóstico en la enfermedad avanzada y que divide claramente los pacientes en grupos con evolución diferente tanto en la posibilidad de obtener una respuesta a la quimioterapia como en la supervivencia libre de progresión y en la supervivencia global. También se configura como valor predictivo, si bien en el futuro debe establecerse su utilidad para aconsejar un cambio de quimioterapia cuando tras un tratamiento estándar no se ha conseguido descender el número de las CTC. Su valor en la evaluación de la respuesta es complementario con las pruebas de imagen e incluso puede ser más precoz para la valoración de la eficacia (la persistencia de las CTC elevadas indicaría resistencia al tratamiento). También será preciso establecer si esta correlación se mantiene en el grupo de pacientes en los que puede integrarse una cirugía de metástasis hepáticas.

En cuanto a la enfermedad localizada (estadios II y III) su papel pronóstico parece evidente, si bien será preciso clarificar si sirven para discernir qué pacientes van a recibir un tratamiento adyuvante.

De todas las técnicas utilizadas para la determinación de las CTC la única estandarizada y además aprobada por la FDA es el sistema «CellSearch (Veridex)». Entre sus limitaciones se encuentra por un lado que sólo el 25-40% los casos presenta de entrada una elevación de las CTC. Lo anterior indica que es muy probable que los sistemas actuales de medida no detecten todas las CTC con potencial metastático, a lo que hay que añadir que también es posible que existan falsos negativos. A su pesar creemos que su valor en la clínica hace aconsejable su utilización, y desde luego que debería ser empleado en todos los ensayos clínicos en los que se evalúen nuevos fármacos.

Por último en el futuro se hace necesario investigar nuevos marcadores de las CTC, especialmente los relacionados con las células madre del cáncer.

BIBLIOGRAFÍA

1. PATERLINI-BRECHOT, P and BENALI, NL (2007). «Circulating tumor cells (CTC) detection: Clinical impact and future directions». *Cancer Letter* 253:180-204.
2. ASHWORTH, TR (1869). «A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death». *Aust Med* 14:146-149.
3. BOMAN BAND WICHA, M (2008). «Cancer Stem Cells: A step toward the cure». *J Clin Oncol* 26(17):2795-2799.
4. WICHA, MS and HAYES, D (2011). «Circulating tumor cells: Not all detected cells are bad and not all bad cells are detected». *J Clin Oncol* (...)
5. PAVELIC, SK; SEDIC, M; BOSNJAK, H; SPAVENTI, S and PAVELIC, K (2011). «Metastasis: new perspectives on an old problem». *Molecular Cancer* 10:22, 1-14.
6. MANI, S; GUO, W; LIAO, M, et al. (2008). «The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells». *Cell* 133:704-715.
7. CRISTOFANILLI, M; BUDD, T; ELLIS, MJ, et al. (2004). «Circulating tumor cells, disease progression and survival in metastatic breast cancer». *New Engl J Med* 351(8):781-791.
8. CRISTOFANILLI, M; HAYES, DF; BUDD, T, et al. (2005). «Circulating tumor cells: A novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer». *J Clin Oncol* 23(8):1420-1430.
9. HAYES, DF; CRISTOFANILLI, M; BUDD, T, et al. (2006). «Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free overall survival». *Clin Cancer Res* 12(14):4218-4224.
10. BUDD, T; CRISTOFANILLI, M; ELLIS, MJ, et al. (2006). «Circulating tumor cells versus imaging-predicting overall survival in metastatic breast cancer». *Clin Cancer Res* 12(21):6403-6409.
11. LOBERG, R; FRIDMAN, Y; PIENIA, B, et al. (2004). «Detection and isolation of circulating tumor cells in urologic cancers: A review». *Neoplasia* 6(4): 302-309.
12. BONO, J; SCHER, H; MONTGOMERY, B, et al. (2008). «Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration resistant prostate cancer». *Clin Cancer Res* 14(19).
13. OLMOS, D; ARKENAU, HT; ANG, JE, et al. (2009). «Circulating tumour cell (CTC) counts as intermediate endpoints in castration-resistant prostate cancer (CRPC): a single-center experience». *Ann Oncol* 20:27-33.
14. ATTARD, G; REID, A; A'HERN, R, et al. (2009). «Selective inhibition of CYP17 with Abiraterone Acetate is highly active in the treatment of castration-resistant prostate cancer». *J Clin Oncol* 27(23):3742-8.
15. COUMANS, FA; DOGGEN, CJ; ATTARD, G; DE BONO, JS; TERSTAPPEN, LW (2010). «All circulating EpCAM+CK+CD45 objects predict overall survival in castration-resistant prostate cancer». *Ann Oncol* 21(19):1851-7.
16. SCHER, HI; JIA, X; DE BONO, S, et al. (2009). «Circulating tumor cells as prognostic markers in progressive castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data». *The Lancet Oncology* 10(3):233-239.
17. COHEN, SJ; PUNT, C; IANNOTTI, N, et al. (2008). «Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall

- survival in patients with metastatic colorectal cancer». *J Clin Oncol* 26(19):3213-3221.
18. COHEN, SJ; PUNT, C; IANNOTTI, N, et al. (2009). «Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer». *Ann Oncol* 20:1223-1229.
 19. TOL, J; KOOPMAN, M; MILLER, M, et al. (2010). «Circulating tumour cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents». *Ann Oncol* 21(5):1006-1012.
 20. SASTRE, J; MAESTRO, ML; PUENTE, J, et al. (2008). «Circulating tumor cells in colorrectal cancer: correlation with clinical and pathological variables». *Ann Oncol* 19:935-938.
 21. LURJE, G; SCHIESSER, M; CLAUDIUS, A and SCHNEIDER, PM (2010). «Circulating tumor cells in gastrointestinal malignancies: Current techniques and clinical implications». *Journal of Oncology*. Article ID 392652.
 22. TSOUMA, A; AGGELI, C; PISSIMISSIS, N, et al. (2008). «Circulating tumor cells in colorectal cancer: Detection methods and clinical significance». *Anti-cancer Research* 28:3945-3960.
 23. ALLARD, WJ; MATERA, J; MILLER, MC, et al. (2004). «Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases». *Clin Cancer Res* 10:6897-6904.
 24. GARCÍA-SAENZ, JA; MARTÍN, M; MAESTRO, M, et al. (2006). «Circulating tumoral cells lack circadian-rhythm in hospitalized metastatic breast cancer patients». *Clin Transl Oncol* 8:826-9.
 25. RIETHDORF, S; FRISTSCHKE, H; MÜLLER, V, et al. (2007). «Detection of Circulating Tumor Cells in peripheral blood of patients with metastatic breast cancer: A validation study of the CellSearch System». *Clin Cancer Res* 13:920-928.
 26. BEVERIDGE, R. (2007). «Circulating tumor cells in the management of metastatic breast cancer patients». *Community Oncology* 4:79-82.
 27. INHUMA, H; WATANABE, T; MIMORI, K, et al. (2011). «Clinical Significance of circulating tumor cells, including cancer ítem-like cells, in peripheral blood for recurrence and prognosis in patients with Duke's stage B and C colorectal Cancer». *J Clin Oncol* (...)
 28. DÍAZ-RUBIO, E. (2006). *Avances en el tratamiento del cáncer colorrectal metastático: desde la nada a la esperanza*. Discurso de entrada en la Real Academia Nacional de Medicina. Ed. Taravilla. Madrid.
 29. DÍAZ-RUBIO, E. (2009). «Biomarcadores y terapéutica anti-EGFR en el cáncer colorrectal metastático en pacientes con K-RAS no mutado». *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, tomo CXXVI, 244-262.
 30. COHEN, SJ; ALPAUGH, RK; GROSS, S et al. (2006). «Isolation and characterization of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer». *Clin Colorectal Cancer* 6:125-132.
 31. COHEN, SJ; TERSTAPPEN, LW; PUNT, CJ, et al. (2006). «Circulating endothelial cells (CEC) and circulating tumors cells (CTC) in patients with metastatic colorectal cancer». *Proc. ASCO* 24:153s(Abstr 3531).
 32. VIDAURRETA, M; SASTRE, J; SANZ-CASLA, MT, et al. (2007). «Detección y cuantificación de células tumorales en sangre periférica de pacientes con cáncer de colon». Resultados preliminares. *Med Clin* 129:333-334.

33. SASTRE, J; MAESTRO, ML; GÓMEZ, A, et al. (2010). «Enumeration circulating tumor cells (CTCs) is a prognostic and predictive factor for progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) in colon cancer patients receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab. A TTD Spanish Group Cooperative Study». ESMO Congress Milan, abstract 173 PD.
34. TABERNERO, J; ARANDA, E; GÓMEZ, A, et al. (2010). «Phase III study of first-line XELOX plus bevacizumab (BEV) for 6 cycles followed by XELOX plus BEV or single-agent (s/a) BEV as maintenance therapy in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC): The MACRO Trial (Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors TTD)». *J Clin Oncol* 28:15S, 3501 (abs).
35. RAHBARI, N; AIGNER, M; THORLUND, K, et al. (2010). «Meta-analysis shows that detection of circulating tumor cells indicates poor prognosis in patients with colorectal cancer». *Gastroenterology* 138:1714-1726.
36. ALLEN-MERSH, TG; MCCULLOUGH, TK; PATEL, H, et al. (2007). «Role of circulating tumor cells in predicting recurrence after excision of primary colorectal carcinoma». *Br J Surg* 94:96-105.
37. BESSA, X; ELIZALDE, JL; BOIX, L, et al. (2001). «Lack of prognostic influence of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with colorectal cancer». *Gastroenterology* 120:1084-1092.
38. GHOSSEIN, RA (1999). «Molecular Detection of Micrometastases and Circulating Tumor Cells in Solid Tumors». *Clinical Cancer Research* 5:1950-1960.
39. VLEMS, FA; DIEPSTRA, JHS; CORNELISSEN, MHA, et al. (2002). «Limitations of cytokeratin 20 RT-PCR to detect disseminated tumour cells in blood and bone marrow of patients with colorectal cancer: expression in controls and downregulation in tumor tissue». *Mol Pathol* 55:156-163.
40. BOMAN, B; HUANG, E (2008). «Human Colon Cancer Stem Cells: A new paradigm in gastrointestinal oncology». *J Clin Oncol* 26(17):2828-2838.
41. SELL, S and LEFFERT, L (2008). «Liver Cancer Stem Cells». *J Clin Oncol* 26(17):2800-2805.

INTERVENCIONES

Prof. Félix Pérez y Pérez

En primer lugar felicitar efusivamente a nuestro conferenciante por su brillante exposición.

Entiendo que la identificación de células tumorales en sangre, representa un avance impresionante por dos motivos:

- la referida presencia, desde el punto de vista cuantitativo significa virulencia y por tanto peligrosidad del tumor, y en segundo lugar, el incremento, mantenimiento o disminución de las mismas, nos permite evaluar la eficacia del tratamiento.

Prof. Seoane Prado

El exquisito trabajo analítico realizado, con la detección de 3 a 5 células tumorales circulantes, merece mi felicitación y sugiere dos preguntas. En primer lugar: ¿hasta que punto el trabajar con tan bajos números permite una extrapolación estadística de los resultados? Por otra parte ¿cabría trabajar en una identificación más precisa del tipo de CTC de cara a una mejor selección del tipo de quimioterapia apropiado para cada paciente?

Por último, y de gremio a gremio, agradezco como químico a los oncólogos que sean los únicos especialistas que usan el uso del término Quimioterapia, cuando en realidad sustancias químicas son todos y cada uno de los fármacos de que dispone la medicina en cualquiera de sus especialidades».

Prof. García-Sancho

Me levanto para felicitarle por su magnífica exposición y la calidad e interés de su contenido.

Los cirujanos, al operar tumores colorrectales, desde hace años practicamos la técnica «non-toach», es decir procuramos manosear y exprimir lo menos posible el tumor y hacemos la ligadura temprana de las venas de drenaje del segmento digestivo a resecar. El objetivo, al menos teórico, es impedir el paso de células tumorales desprendidas del tumor a la circulación y evitar así las posibles metástasis a distancia. ¿Es acertada esta hipótesis?

Con la nueva tecnología para la detección de células tumorales circulantes, ¿considera interesante realizar el procedimiento durante la operación con fines predictivos, en caso de positividad, de qué pacientes pueden ser tributarios de desarrollar metástasis?

Reitero mi felicitación por su conferencia.

Prof. Blázquez

Coincido con los compañeros que me han antecedido en el uso de la palabra, en los elogios a la charla que acabamos de escuchar, lo cual no es extraño si tenemos en cuenta las anteriores brillantes intervenciones del Prof. Eduardo Díaz Rubio.

La clasificación de los tumores se ha llevado a cabo tradicionalmente de acuerdo con criterios anatomopatológicos y así continuará en el futuro, pero en la actualidad también se podrían tener en cuenta otras consideraciones como la expresión de mutaciones o la presencia de proteínas anómalas que aportan nuevas informaciones sobre las características y malignidad de los tumores. Dado el interés que esto tiene me gustaría conocer si en las células tumorales circulantes que han estudiado se podría analizar también los parámetros citados, con objeto de obtener una caracterización más profunda.

Por otra parte los procedimientos utilizados para la identificación y caracterización de células cancerosas circulantes, pienso que también podrían ser tenidos en cuenta para la valoración de células madres o troncales tras estímulos a agresiones en las que sea necesaria su diferenciación.

Finalmente reitero mis felicitaciones por su excelente presentación.

Prof. García Sagredo

Quiero unirme a la felicitación unánime por la brillante descripción de una técnica útil y elegante.

En la década de los 90, los genetistas empezamos a utilizar diferentes técnicas de aislamiento de células muy poco frecuentes como las fetales en el torrente sanguíneo de una mujer embarazada. Después de ímprobos esfuerzos e ingentes inversiones con resultados bastante desalentadores, hemos pasado a la detección de ADN libre fetal en plasma materno que puede ser más eficiente y barato. Mi pregunta va en este sentido, ¿se han realizado estudios de ADN libre tumoral en paralelo a la determinación de células tumorales circulantes? ¿Podría ser un futuro biomarcador?

Muchas gracias.

Prof. Dr. Óscar Valtueña Borque

Desde la modestia de mis conocimientos sobre el cáncer me parece una obviedad felicitar al Prof. Díaz Rubio por su magnífica conferencia y prefiero decir con toda sinceridad: ¡Muchas gracias, Profesor Díaz Rubio!

En todo caso a mí me gustaría saber a qué edad cronológica y en relación con la detección del cáncer comienzan a aparecer las células tumorales circulantes.

Una vez más, muchas gracias.

Prof. Julio Mayol

«Primero quiero felicitar al Profesor Díaz-Rubio por su presentación, que como se ha dicho, ha sido brillante. Pero sobre todo, quiero agradecerle el liderazgo que ha ejercido para introducir y desarrollar esta tecnología en el Hospital Clínico San Carlos, lo que nos va a permitir contestar a algunas de las preguntas que ha planteado el Profesor García Sancho. Pero mis dos preguntas son muy específicas:

1. Tal como nos ha contado con el modelo de las células madre tumorales, ¿tendría interés determinar la presencia de estas células madre tumorales, que expresen el marcador CD133, en sangre?

2. Muchos pacientes con cáncer colorrectal estadio IV con enfermedad confinada al hígado son remitidos a cirugía para la resección de las metástasis. Sin embargo, sólo conseguimos supervivencias a cinco años en el 25-30 % de los pacientes. ¿Podrían las CTCs ayudarnos a seleccionar a pacientes para la resección de las metástasis?».

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Muchas gracias a los dos conferenciantes en el día de hoy. El Dr. Díaz-Rubio demuestra sin duda la importancia de la incorporación de un sillón de oncología a la Academia, de la cual ha estado huérfano seguramente a lo largo de toda su historia puesto que ha habido muy pocas personas que han mostrado predilección desde los sillones por el mundo de la oncología hasta que se ocupó por él. Creo que él nos viene trayendo una cantidad de problemas, que vamos conociendo poco a poco, que nos va abriendo los ojos, que nos va poniendo de manifiesto además también cómo la similitud que se hace de la palabra cáncer con muerte es algo totalmente desfasado, como la prudencia que él ha manifestado del trabajo, que le cuesta hablar de curación a los oncólogos, o al menos a él, como

ha hecho referencia y cómo siempre en todas las estadísticas y en todos los porcentajes que pone, y seguramente todos los oncólogos, nunca ponen el 100% sino como hemos visto en algunos de ellos ponen hasta el 95%. Es decir, es una prudencia que nos habla de la progresión tan importante que está teniendo hoy día el desarrollo de la oncología. La oncología se ha desarrollado mucho no solamente como él ha dicho muy bien en la conferencia de hoy, por las disponibilidades terapéuticas que han ido cambiando, sino sobre todo por el diagnóstico de la enfermedad, que no solamente es más precoz sino que es mucho más fino. Hoy lo que él ha presentado tanto de las células tumorales circulantes como el K-ras y la combinación de ambas, nos hablan de esa finura y él hace también una autocrítica importante de las limitaciones que tienen estas determinaciones de células circulantes, cómo todavía continua en el terreno experimental y cómo lo deseable sería que pasarán al terreno clínico siempre y cuando los resultados que se obtuvieran con ello fueran resultados fiables y no siempre con esa prevención tan importante que él nos ha manifestado. Creo que en cualquier caso hay que felicitarle, hay que animarle a que siga en este importante estudio y que nos vaya trayendo a la Academia cuáles son los resultados, las nuevas aportaciones y los nuevos resultados desde el punto de vista terapéutico que se obtienen con este factor tan importante predictivo como son las células tumorales circulantes en combinación con algunos marcadores tumorales como el K-ras.

Por otra parte la conferencia del Prof. Sánchez Granjel ha sido también magnífica, él dice «es la última conferencia que doy en la Academia». Permítame Prof. Sánchez Granjel que lo dude. El tiempo que el Prof. Sánchez Granjel viene estando con nosotros siempre viene manifestando que su estado físico de alguna forma empeora y cada vez le cuesta más trabajo desplazarse de Salamanca aquí, de venir, de preparar cosas, sin embargo la verdad es que viviendo cercanamente con el Prof. Sánchez Granjel en la Junta Directiva, uno realmente queda asombrado por sus ganas de colaboración, su entrega a la Academia y de seguir trabajando. Creo que para él, nunca la Academia ha sido algo así como un honor sino como un compromiso y un trabajo, y realmente es digno de todo encomio y reconocimiento, que una persona, como él dice con sus limitaciones físicas, que aunque las tiene, porque él lo manifiesta y hay que creerle, sin embargo la manifestación intelectual que hace continuamente es tremenda, su colaboración siempre está dispuesta, ha transfor-

mado la Biblioteca, colabora continuamente en el Boletín, colabora con la Junta Directiva, colabora en todos los Grupos de Trabajo en que se le mete, y viene desde Salamanca aquí a dar una conferencia tan importante como la de hoy. Por tanto no creo, D. Luis, que sea la última, eso dice usted hoy, seguramente mañana está preparando otra cosa como muy bien ha dicho. A mi juicio está tocando en los últimos años, después de haber escrito esa magnífica «Historia de la Academia», una Historia que parece muy densa, y que lo es realmente, pero que ahí está todo, salvo los años que hablábamos de oscuridad que hacía referencia también el Prof. González de Posada en una de sus conferencias, él está rescatando una enorme cantidad de cosas. Y ha rescatado hoy algo que por otra parte era sabido y yo creo que lo importante y aquí hay la diferencia entre un historiador y simplemente los que en un momento de nuestra vida podemos ser aficionados, cómo él hace primero un escenario de cuál es la situación de lo que va a contar y él ha escenificado muy bien cual era esta Academia, esta en la que estamos porque ya existía físicamente, y estos sillones ocupados por otros Señores Académicos y cual era el escenario de un determinado ambiente político que se vivía en España y el ambiente político que se vivía en la Academia, y como todo estaba condicionado de alguna forma por personas de un enorme prestigio profesional y científico en su momento, la medicina de entonces no era como la medicina de ahora. Es absolutamente incomparable, por entonces la referencia en todo era la Real Academia, y hoy día son otros lugares, otros foros de encuentros, sociedades científicas, congresos, etc. Aquí era donde existía el debate y era gente muy importante desde el punto de vista científico y a su vez también, como él ha explicado muy bien, gente muy influyente en la sociedad, tanto el ámbito político como en el ámbito social. Ha dicho que había senadores, había diputados, había gente que estaba metida en la política y a su vez también eran escuchados, hubo hasta Presidentes del Gobierno, por lo tanto el escenario que había era un escenario tremendamente pernicioso para cualquier situación como la que él ha contado cuando se quedaba una plaza vacante, y seguramente en esta plaza vacante por la importancia de esta plaza, que era la que ocupaba Ramón y Cajal, pues seguramente hay una historia, y hay unas actas verdaderamente exuberantes, pero posiblemente esto estaba pasando en otras muchas vacantes que se iban produciendo. La personalidad de Lafora, que él también ha explicado y también el Dr. Martínez-Fornés, era una persona de al-

guna forma que buscaba el enfrentamiento, que de alguna forma buscaba la autoexclusión, es decir era una persona que rápidamente buscaba el enfrentamiento y esto realmente en un ambiente académico que seguramente era crispado por todo el ambiente político y por la diversidad del pensamiento político además que había dentro de la Academia, uno se explica perfectamente todo aquello que pasó. De todas formas como ha dicho González de Posada, que todo aquello que pasó nos debe de servir de reflexión, para pensar en el presente y trazar el futuro. También yo creo que lo que es importante que reflexionemos puesto que los Académicos de Número somos aquellos que nos encerramos en votaciones y tenemos que tomar decisiones en cuanto a aquel voto que depositamos, es que al final uno se queda con su propia conciencia y el voto que uno tiene, por mucho que le hayan presionado, es el voto de uno, y esa es la grandeza y en todo caso cuando no ocurre así, la miseria del ser humano. Por lo tanto todos los que tenemos la obligación de depositar un voto en cualquier lugar de nuestra sociedad y en nuestro día a día y concretamente en nuestra Academia tenemos una enorme responsabilidad, que de alguna forma con la semblanza que nos ha hecho hoy de Lafora el Prof. Sánchez Granjel nos pone de manifiesto que el papel que tenemos que cumplir va mucho más allá del papel por el cual podamos influirnos externamente. Y sin más, agradeciendo de nuevo a los dos intervinientes en el día de hoy, se levanta la Sesión.

XVI SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 14 DE JUNIO DE 2011

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA

LA VITAMINA D. ¿UN FÁRMACO MARAVILLOSO?

VITAMINA D. A WONDERFUL DRUG?

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

Académico de Número

LA REUTILIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

REUTILIZATION OF WASTEWATER

Por el Excmo. Sr. D. FRANCISCO GONZÁLEZ DE POSADA

Académico de Número

LA VITAMINA D. ¿UN FÁRMACO MARAVILLOSO?

VITAMINA D. A WONDERFUL DRUG?

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

Académico de Número

Resumen

La utilidad terapéutica de la vitamina D se ha visto ampliada en los últimos años, en los que se ha reconocido la existencia de receptores nucleares específicos para la misma en muy numerosos y diversos tejidos. Trastornos musculares, y procesos oncológicos, cardiovasculares y autoinmunes se han visto beneficiados con su empleo profiláctico.

Abstract

During the last years vitamina D receptors have been found in a vast number of tissues and cell types. In paralel, the therapeutic utility of vitamina D has expanded to the prophylaxis of muscular, oncologic, cardiovascular and autoimmune disorders.

I. Aún cuando la vitamina D de origen vegetal, a partir del ergosterol, ha estado presente durante millones de años en algunas fitoplasmas y diatomeas, su conocimiento y aplicaciones en la práctica clínica ha sido relativamente reciente. De manera específica, su utilización por parte de los médicos ha venido estando circunscrita a la profilaxis y al tratamiento del raquitismo, y al tratamiento del hipoparatiroidismo y del pseudohipoparatiroidismo.

Efectivamente, durante mucho tiempo, las acciones biológicas conocidas de la vitamina D se referían, prácticamente de modo exclusivo, al metabolismo calcio-fosfórico. Se sabía que la vitamina

promovía la absorción del calcio a nivel intestinal, con lo que la calcemia se elevaba y se frenaba la acción de las paratiroides. En su deficiencia, la reducida absorción del calcio deprimía sus niveles extracelulares, de lo que se seguía una defectuosa mineralización del hueso; de otra parte, la hipocalcemia suscitaba un hiperparatiroidismo secundario, responsable, a su vez, de una desmineralización del hueso existente y de una hipofosfatemia que contribuía con la hipocalcemia a la defectuosa mineralización señalada.

II. Mas si casi hasta la fecha actual los precedentes problemas han sido los únicos contemplados respecto de la vitamina D, en la actualidad, las cosas han cambiado de manera radical. Y ello, por dos circunstancias fundamentales:

- 1.^a Porque se ha demostrado que existe una auténtica pandemia de hipovitaminosis D.
- 2.^a Porque se ha demostrado que existe una distribución casi universal de receptores para la vitamina D: en intestino, riñón, linfocitos T y B, monocitos, músculo liso y estriado, cerebro, endotelio, etc.

Con respecto a lo primero, no existe ninguna duda. Se han realizado estudios epidemiológicos en infinidad de países desarrollados y los resultados han sido unánimes. Los porcentajes de población deficiente son diferentes. Oscilan entre un 22% y un 57% (1, 2, 3), aunque en algunas zonas septentrionales, al final del invierno, la proporción puede alcanzar hasta el 80%.

De dos formas llega la vitamina D al ser humano. Por vía digestiva con algunos alimentos que la contienen, como son los aceites de hígado de algunos pescados, como el bacalao o el hipogloso, y en menor proporción en el huevo, en la leche y en algunos otros pescados (salmón, sardinas, caballa, etc.). En cualquier caso y con las dietas habituales en las sociedades occidentales, la adquisición de vitamina D por ésta vía es poco menos que despreciable, a menos que se enriquezca su contenido con la adición a la leche o a los cereales o a zumos, etc. con cantidades más o menos grandes de la vitamina. Mucha mayor importancia tiene la síntesis de la vitamina D en la piel de las personas. Su precursor inmediato es el 7-dehidrocolesterol (provitamina D); situado abundantemente en la dermis e hipodermis, absorbe la radiación ultravioleta B con longitudes de onda entre 290 y 315 nm; tras su absorción, se produce la rotura en

su anillo beta, formándose previtamina D3, metabolito termodinámicamente inestable que rápidamente se isomeriza a vitamina D. Este proceso viene a durar entre uno y medio a dos días. Debe, finalmente, señalarse que la exposición a la luz solar nunca genera cantidades de vitamina D susceptibles de provocar una intoxicación.

Formada en la piel o absorbida por vía digestiva, la vitamina es transportada por una proteína (DBP) o por quilomicrones, y llevada hasta el hígado, donde una 25-hidroxilasa la va a convertir en 25-hidroxi-calciferol (25-OH-D). Esta sustancia, biológicamente inerte, y cuya vida media es de unas 3 semanas, es la forma principal bajo la cual es transportada por la sangre (normalmente a concentraciones entre 30-60 ng/ml; se considera que hay insuficiencia con niveles entre 20 y 30 ng/ml y deficiencia si son inferiores a 20 ng/ml) y depositada en reserva en el hígado y en el tejido graso. Para su conversión en un producto activo necesita una segunda hidroxilación, que se producirá de manera principal en el túbulo renal por la acción de una 1-alfa-hidroxilasa, que terminará por convertir aquella en 1,25-dihidroxicalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{vitD}$); presente en la sangre a concentraciones normales entre 25-26 pg/ml, tiene una vida media de 4 a 6 horas, y es el producto vitamínico realmente activo. Es interesante tener presente que la parathormona incrementa su síntesis a partir del 25-OH-D.

Durante mucho tiempo se había supuesto que las poblaciones europea y norteamericana, bien alimentadas y protegidas, no presentaban deficiencia vitamínica; se había llegado a ésta falsa conclusión debido a que los métodos aplicados para la valoración de la situación no eran los adecuados: tales han sido las determinaciones de la calcemia, que no se corresponden con los niveles de vitamina D, dado que en situaciones de discretos déficits, el hiperparatiroidismo resultante normaliza los niveles de calcio en sangre. Tampoco fueron más útiles los estudios sobre los niveles plasmáticos de la $1,25(\text{OH})_2\text{vitD}$, ya que se presumía que si estos eran normales debería existir una suficiente cantidad de vitamina D, y ello tampoco era cierto, pues el hiperparatiroidismo que puede existir en la deficiencia, estimula la 1-hidroxilación de la escasa 25-OH-D que pueda haber. En la actualidad se acepta en forma definitiva que el único parámetro que define la normalidad o carencia en vitamina D de un individuo dado, es la 25-OH-D.

En el origen de la deficiencia que venimos señalando intervienen diversas circunstancias, pero todas ellas referidas a una deficiente

radiación cutánea. Variadas motivaciones existen: escasa e inadecuada radiación solar, pigmentación cutánea, aplicación de cremas protectoras frente a la irradiación sobre la piel, defectuosa síntesis vitamínica.

La escasa e inadecuada radiación solar es indudablemente la causa mayor. Durante el invierno, y en los países septentrionales, las horas de sol son limitadas, e interferidas a menudo por nieblas y humos industriales, además de que por el frío ambiental las gentes permanecen con frecuencia muy poco tiempo al aire libre. Por otra parte, debe tenerse presente que en tales épocas del año las radiaciones llegan a la corteza terrestre con una gran inclinación, lo que determina que aquellas deban atravesar en mayor longitud esa importante capa de ozono que envuelve la tierra, y en la cual la radiación ultravioleta es absorbida. La importancia de este hecho es grande. Tanto que en estudios hechos en Boston (a 42,2 grados N) nada de vitamina D se sintetiza en la piel pese a recibirse la luz solar en días sin nubes, desde el mes de noviembre hasta el mes de febrero; a su vez, en Edmonton (a 52 grados N) sucede lo mismo desde octubre a marzo. De modo opuesto, cuando estos mismos estudios se han llevado a cabo en latitudes entre 18 y 33 grados N, la síntesis de vitamina D tiene lugar incluso en la mitad del invierno. Sin embargo, también en verano, y en regiones meridionales, puede producirse el mismo problema, aunque por motivos distintos; en ellas, y por el calor, es frecuente que las gentes solamente salgan al exterior en las horas muy primeras del día o al atardecer, momento en el que, igualmente, los rayos solares llegan a la superficie terrestre con una gran inclinación.

La pigmentación cutánea es otro factor limitante. Protege la piel y evita que la radiación sintetice la vitamina. Es bien conocido que las gentes de piel oscura sintetizan mucha menos vitamina que las de piel clara. De donde se desprende que las primeras, especialmente en los países nórdicos, sufran de modo más importante las deficiencias.

La aplicación de cremas protectoras de la piel es otro aspecto a tener en cuenta. Cuando se utilizan las de máximo nivel, la síntesis de vitamina puede llegar a ser nula, pese a estar expuesto el individuo al sol.

Finalmente, debe consignarse la situación de los ancianos, muy especialmente expuestos a las consecuencias de la deficiencia vitamínica. Son malos formadores de vitamina D. Existen observaciones en las que se ha constatado que para idéntico grado de irradiación,

la síntesis de vitamina D por parte de individuos de entre 77 y 82 años de edad es la mitad de la que se produce en sujetos de entre 8 y 18 años de edad (4).

Por lo que se refiere a la segunda circunstancia anteriormente referida sobre nuestros actuales conocimientos, es decir, sobre la ubicuidad de los receptores de la vitamina D (RVD), lo que primero que debe manifestarse es que ello nos ha proporcionado nuevos puntos de vista sobre la vitamina D, lejos de sus funciones sobre el metabolismo calcio-fosfórico. Fundamental a este respecto ha sido la demostración de que muchas células poseedoras de receptores expresan 1-alfa-hidroxilasa, capaz de convertir localmente la 25-OH-D en el principio activo 1,25-(OH)₂vitD. De ésta forma, se ejerce una acción local, autocrina o paracrina, sobre los RVD intranucleares, bien distinta de la exclusivamente endocrina anteriormente atribuida (5). Los resultados de ésta interacción aún no son del todo bien conocidos, pero si vamos sabiendo muchas de sus consecuencias, las cuales son extraordinariamente importantes.

III. Desde hace muchos años era conocido que los niños deficitarios en vitamina D, y que sufrían raquitismo, presentaban síntomas debidos a hipotonía muscular que se manifestaba, a veces, por patología respiratoria y más frecuentemente por una marcha algo anadeante, por dificultades para subir escaleras, etc., y a menudo también por dolor músculo-esquelético. Si los rasgos clínicos eran muy sugestivos de deficiencia de vitamina D, todo quedaría refrendado cuando se demostró que a nivel de los músculos estriados y también en los lisos existían RVD. Estos receptores, y bajo la influencia de la 1,25(OH)₂vitD, eran determinantes de acciones autocrinas y paracrinas responsables de la contracción muscular normal, de procesos de miogénesis, de proliferación, de diferenciación y de apoptosis celular. De otra parte, es interesante destacar que en estudios anatómicos verificados en enfermos con osteomalacia, deficitarios en vitamina D, se ha evidenciado una atrofia de las fibras musculares de tipo II; y tiene una gran importancia la observación de que en el caso de movimientos rápidos para restaurar un equilibrio perdido, las fibras de tipo II son las que primeramente se reclutan para tales acciones.

Considerando los hechos precedentes, la frecuencia con que entre la gente mayor existe un déficit de vitamina D, y lo comunes y graves que son las caídas entre ellos, se comprende que se haya

prestado atención a la posible influencia preventiva de la vitamina D en tales accidentes. Y los resultados han sido enormemente estimulantes. De una parte, se ha comunicado que mujeres de más de 65 años con concentraciones de 25-OH-D < 10 ng/ml no solo tienen un mayor riesgo de perder masa y fuerza muscular, sino que también han mostrado una mayor frecuencias de fracturas de fémur por caídas. Pero es que, de otro lado, se ha observado que cuando se proporcionan suplementos de vitamina D a la gente mayor disminuye en ella positivamente el número de caídas en una proporción que varía, según los trabajos publicados, de entre un 20% y un 50%, cuando se compara el grupo de sujetos suplementados con otro grupo al que se administró un placebo (6). El tema es particularmente interesante si se considera que estos sujetos que caen con frecuencia son, al tiempo, osteoporóticos, como consecuencia de su déficit en vitamina D y su secundario hiperparatiroidismo. De manera general se considera que, para disponer de una buena salud esquelética, cualquier persona debe tener una tasa de 25-OH-D superior a 30 ng/ml,

Igualmente es interesante considerar, en referencia a las relaciones entre la función muscular y la vitamina D, lo que se ha observado entre los atletas de élite. Desde hace ya tiempo, se había observado que los rendimientos de los atletas eran superiores durante los meses de verano que en los de invierno, pese a mantener el mismo régimen de entrenamientos, si bien estos últimos se llevaban a cabo durante el invierno en instalaciones cerradas; y fue por ello, por lo que en diversos países se procedió a proporcionar radiaciones ultravioleta a los atletas, observándose que tras su aplicación su fuerza y velocidad se incrementaban de manera significativa.

Por último, creemos de gran interés referir las observaciones realizadas sobre la relación entre mialgias músculo-esqueléticas y vitamina D. Hay ya numerosos estudios, todos ellos concordantes, en el sentido de que los pacientes con mialgias son deficitarios en vitamina D con gran frecuencia (hasta en un 93% de los pacientes en alguna serie) (7). Muy curiosos son igualmente los llevados a cabo en sujetos sometidos tratamiento con estatinas; muchos de estos manifiestan mialgias que incluso les llevan a interrumpir sus tratamientos, dándose la circunstancia de que un número elevado de los mismos (alrededor del 64%), son deficitarios en vitamina D. De gran importancia ha sido comprobar que cuando tales individuos han sido suplementados adecuadamente con la vitamina, no solo las mialgias han desaparecido, sino que han podido proseguir su terapia con esta-

tinias sin que se reanudasen los problemas (8). Por todas éstas observaciones es por lo que en la actualidad se recomienda que todos los pacientes afectados de mialgia, especialmente si se comprueba que son deficitarios en 25-OH-D, sean adecuadamente suplementados.

IV. No es conocido el por qué de las acciones ventajosas de la vitamina D sobre el sistema cardiovascular, pero sí sabemos, a través de muy numerosos estudios epidemiológicos, que la deficiencia vitamínica se asocia a una mayor frecuencia de angina, de infarto y de ictus. Así lo han comunicado Wang y col. en un estudio llevado a cabo a lo largo de más de 5 años en sujetos con niveles de 25-OH-D inferiores a 30 ng/ml (9), e igualmente Kendrick y col. (10) en un grupo de individuos con valores por debajo de 20 ng/ml. Y no solamente esto, sino que, como podría esperarse, ha sido también demostrado que entre los niveles de vitamina D y los factores de riesgo cardiovascular existe una relación inversa (hipertensión, diabetes, obesidad e hipertrigliceridemia) (11). A este respecto son interesantes los estudios NHANES (12, 13) realizados en un número importante de adolescentes, en los que se constató que los bajos niveles de 25-OH-D estaban asociados con un mayor riesgo de hipertensión (se cree que aquella tiene un efecto regulador negativo sobre el sistema renina-angiotensina) (14), hiperglucemia (está demostrado que la vitamina tiene una relación positiva con la sensibilidad a la insulina) (15) y síndrome metabólico. El nivel medio de 25-OH-D osciló entre 15,5 ng/ml y 28 ng/ml, y se observó que quienes estaban en el cuartil más bajo (<15 ng/ml) tenían una probabilidad 2,36 veces mayor de tener una tensión arterial elevada, 2,54 veces mayor de tener hiperglucemia y 3,99 veces mayor de tener síndrome metabólico, que los que se encontraban en el cuartil superior (>26 ng/ml).

Finalmente, y todavía en relación con el sistema cardiovascular, se han realizado algunas otras interesantes constataciones. Tales han sido el haber hallado por algunos autores una relación positiva entre los bajos niveles de 25-OH- vit D y calcificación de las arterias coronarias (16), y el que la mortalidad de los sujetos trasplantados de corazón es significativamente mayor en el primer año tras el trasplante, cuando son deficitarios en la vitamina (17).

V. Desde un punto de vista completamente diferente fueron interesantísimos los trabajos iniciales de Swartz en el cáncer de pró-

tata. Fue en sus células donde pudo demostrar por vez primera que ellas expresaban 1-alfa-hidroxilasa, y que activaban el 25-OH-D convirtiéndolo en $1,25(\text{OH})_2\text{vitD}$. Posteriormente, se observó que este mismo hallazgo se hallaba presente en otras células cancerosas del colon y de la mama, así como en células normales. A partir de aquí se llegó al convencimiento de que la vitamina D ejercía unas importantísimas acciones autocrinas sobre el desarrollo celular (18, 19). En efecto, la $1,25(\text{OH})_2\text{vitD}$ bloqueaba la multiplicación celular, interrumpiendo su ciclo divisorio entre las etapas G1 y S, evitando la síntesis de ADN, en realidad, evitando su duplicación.; de este modo, se producía un acumulo de células en fase G1, mientras que se reducía el número de las que habitualmente existen en fase S. De otra parte, existen también datos que indican que es muy probable que exista otro bloqueo en el ciclo celular, este entre las fases G2 y M, es decir, entre la preparación de la división celular y la mitosis propiamente dicha. De ésta forma, la $1,25(\text{OH})_2\text{vitD}$ controla y limita a nivel local la proliferación celular. Además de éstas acciones, se observó que, igualmente, facilitaba la diferenciación celular al tiempo en que regulaba la apoptosis.

Con toda esta nueva información, que naturalmente aparecía como típicamente antitumoral, se emprendió, o mejor dicho, se continuó con mayor empeño con investigaciones epidemiológicas orientadas a conocer la relación que podría tener la disponibilidad de vitamina D con el cáncer. Existían trabajos antiguos, nada menos que de 1941 (Apperly), en los que se refería que la mortalidad por cáncer era sensiblemente superior en aquellas personas que habían recibido poca radiación ultravioleta, y sobre ello se insistió con mayor fundamento a finales del siglo por Garland en varios trabajos (20, 21), manifestando que el hecho era sobre todo evidente en los casos de cáncer de colon, de próstata y de mama. Esta lista sería ampliada poco después por Grant (22) a muchas otras localizaciones (vejiga, esófago, vesícula, estómago y recto, entre otros); se añadía que entre la población de color la frecuencia de la mortalidad era también superior a la de la raza blanca, pensando que esto se encontraría en relación con la menor síntesis de vitamina D por parte de la raza negra.

Mas, considerando que lo que hace la radiación ultravioleta es sintetizar vitamina D en la piel, se emprendieron a continuación estudios mucho más precisos en los que se procuró establecer si existía relación entre la incidencia y mortalidad por cáncer y los

niveles plasmáticos de vitamina D . Fueron los más importantes los llevados a cabo por Giovannucci y col (23), quienes en una amplísima muestra concluyen que la incidencia total de cáncer es un 17% inferior cuando se aumentan en 10 ng/ml los niveles de 25-OH-D, y en el conjunto de los cánceres la mortalidad es inferior a un 29%. De un modo particular esta relación fue especialmente significativa en lo que se refiere a los cánceres colorrectal, pancreático, esofágico, oral y faríngeo. Datos diferentes fueron los más recientemente aportados por Freedman y col (datos del estudio NHANES III) (24): manifiestan que con respecto a la mortalidad global por cáncer no existe relación entre ella y los niveles de 25-OH-D; sin embargo, y por lo que se refiere a los cánceres colorrectal y de mama si que observaron una manifiesta diferencia en la mortalidad entre quienes tenían unos niveles normales de 25-OH-D y aquellos que los tenían claramente inferiores. Por su parte Pilz y col. (25), en 2009, refieren que sobre un total de más de 3.000 sujetos controlados durante casi 8 años, la mortalidad por cáncer fue un 55% inferior en los individuos cuyos niveles de 25-OH-D se encontraban en el cuarto cuartil comparados con los sufridos por los que se hallaban en el primer cuartil. Interesante a destacar es que en la mayoría de los estudios que han analizado el tema suelen coincidir en que efectivamente con la radiación ultravioleta y con la vitamina D los riesgos se reducen, pero esta reducción es mayor en lo que se refiere a mortalidad que a incidencia.

Otro enfoque diferente del problema ha sido el de analizar si con suplementos de vitamina D diariamente suministrados, se reducen los riesgos de incidencia y de mortalidad. A tales efectos, se han hecho diversos estudios prospectivos sobre grupos importantes de mujeres a quienes a unas se les administraron 400 U diarias de vitamina D, mientras que a otras se les daba un placebo. No se observaron resultados positivos. Sí, en cambio, los consiguieron otros autores cuando la cantidad de vitamina D que se proporcionó fue del orden de las 1.100 U diarias; es el caso de Lappe y col. (26) quienes trataron a más de 1.000 mujeres menopaúsicas con una sal de calcio y 1.100 U diarias de vitamina D durante cuatro años. El riesgo de incidencia de cáncer en el grupo tratado se redujo hasta en un 60% cuando se compararon los resultados con un grupo control que había recibido un placebo.

Analizando el conjunto de las observaciones realizadas hasta la fecha parece que, efectivamente, existe una protección ejercida por

la vitamina D sobre la incidencia de cáncer. En las distintas publicaciones se manifiesta que con niveles elevados de 25-OH-D, la incidencia de cáncer se reduce entre un 17 % y un 60 %. No obstante, hay autores que consideran que aunque todo este tipo de resultados parecen como muy verosímiles, les falta aún consistencia para ser aceptados de forma definitiva.

VI. El descubrimiento en los años finales del pasado siglo de que también en los linfocitos CD8, CD4, macrófagos y células dendríticas existían RVD, hizo suponer que la vitamina D contribuiría de forma importante en la modulación del sistema inmune. Paralelamente a estas sospechas se puso de manifiesto que muchos de los individuos que desarrollaban enfermedades autoinmunes eran deficitarios en vitamina D. Estos fueron los estímulos para que se emprendieran estudios diversos de laboratorio en los que se puso de manifiesto que la $1,25(\text{OH})_2\text{vitD}$ disminuía la proliferación celular de Th1, la producción de interferón gamma y de Il-2 e Il-5 (27, 28); experimentalmente, se consideró que la disminución de la Il-2 era uno de los efectos más consistentes de la $1,25(\text{OH})_2\text{vitD}$ y que intervenía de forma más decisiva en la reducción de la mortalidad en ratones a los que se había hecho enfermar de procesos autoinmunes. Así mismo se constató que existía bajo el influjo de la vitamina una reducción en el factor de necrosis tumoral, circunstancia que disminuía la importancia de los fenómenos inflamatorios. Por último, y también relevante en relación con estos hechos fue el descubrimiento de que en la carencia vitamínica se producía una disminución de la respuesta de hipersensibilidad diferida al dinitrobenceno en ratones (29).

En el plano ya de la clínica humana, y en relación con las enfermedades autoinmunes, son numerosas las aportaciones realizadas.

Así, por ejemplo, y con respecto a la diabetes tipo 1, es muy importante el papel que desempeña la vitamina D en su prevención: Hypponen y col. han señalado, a través de un amplio estudio en niños finlandeses, que cuando se proporcionan 2.000 U de vitamina D a los niños durante el primer año de vida, el riesgo de sufrir posteriormente una diabetes tipo 1 se reduce en un 80 % (30).

Otras interesantes contribuciones han sido las efectuadas a propósito de la esclerosis múltiple (EM), entidad en la que su condición de enfermedad autoinmune se halla bien establecida. La utilidad de este ejemplo queda ampliada por el hecho de disponerse de un

modelo experimental en el ratón, la encefalomiелitis autoinmune (EAI) provocada al inyectarle una proteína de tipo mielínico, y que resulta muy similar en muchos aspectos a la EM.

Epidemiológicamente, y desde hace ya bastantes años, se había observado que la EM tenía una prevalencia que se relacionaba muy estrechamente con la habitabilidad de las gentes en latitudes muy septentrionales y con el número de horas de radiación solar existentes en los meses invernales (31). Mucho más recientemente, y de gran interés, fueron los estudios llevados a cabo por Auer y col. (32), en Alemania, quienes practicando RM con gadolinio en pacientes con EM encontraron que el número de lesiones activas era muy superior en los meses de primavera que en los del otoño; estas observaciones quedaron complementadas con otras llevadas a cabo por Embry y col. (33), quienes vieron que las variaciones estacionales se hallaban inversamente relacionadas con los niveles plasmáticos de 25-OH-D de los pacientes.

De otra parte, y en el plano experimental, Munger y col. suministraron 1,25(OH)₂vitD a ratones a los que posteriormente inyectaron proteína mielínica a fin de provocar EAI. Los animales tratados no desarrollaron la enfermedad. Pero además, en otros lotes de animales hechos enfermar de EAI, si en el momento de empezar a manifestar los primeros síntomas eran tratados con 1,25(OH)₂vitD estos desaparecían, pero volvían a reaparecer tan pronto se interrumpía el tratamiento (34). En la interpretación de estos hechos se considera que son fundamentales algunas de las circunstancias antes referidas: inhibición de la producción de Th1, Il-2, Il-5, interferón gamma y FNT.

Los mismos autores de estas experiencias llevaron a cabo un estudio prospectivo en cerca de 100.000 mujeres valorando el efecto de suplementos de vitamina D sobre la incidencia de EM. Llegaron a la conclusión de que el riesgo de padecer la enfermedad se reduce en un 40% cuando se ha utilizado un suplemento vitamínico D (debe señalarse que los autores emplearon un producto polivitamínico, lo que reduce la fiabilidad de la experiencia).

VII. Hemos visto como la disponibilidad de cantidades adecuadas de vitamina D es un parámetro importante para prevenir y aún tratar no pocas situaciones patológicas.

Durante muchos años se consideró a la vitamina D poco menos que una sustancia únicamente precisa para los niños a quienes se

les suministraba como preventiva o como terapia frente al raquitismo. Tradicionalmente se recomendaba proporcionar diariamente a los niños 400 U, y se procuraba que los padres fueran constantes en su administración. No obstante, las frecuentes negligencias indujeron a practicar una profilaxis silenciosa. Se procedió, especialmente en el Reino Unido, a enriquecer en vitamina D numerosos productos destinados al consumo infantil (leche, zumo de naranja, cereales, etc.). Su eficacia fue notoria, pero pronto se observaron efectos indeseables. Se produjo una auténtica epidemia de hipercalcemias que, inicialmente, fueron calificadas de idiopáticas, pero que muy pronto fueron correctamente interpretadas: se habían excedido en la fortificación de los alimentos. Tampoco fue mejor recurso ante la negligencia la utilización de las llamadas dosis masivas de vitamina D (600.000 U de vitamina D). Suministradas a los niños, una vez al mes, por mucha gente fueron, asimismo, frecuente origen de importantes intoxicaciones: hipercalcemia, hipercalciuria, anorexia, estreñimiento, poliuria, etc. El temor a estos cuadros hizo que las Sociedades Científicas aconsejaran durante algún tiempo que se redujeran las dosis de todo tipo de la vitamina hasta una media de 200 U diarias. Desafortunadamente, estas recomendaciones coincidieron con un renovado impulso en pro de la lactancia materna, y dado que en la leche de mujer el contenido de vitamina D es muy pobre, volvieron aparecer leves formas de raquitismo. Ello, principalmente, indujo a prestigiosas sociedades científicas (Lawson Wilkins Pediatric Endocrinology Society) a recomendar que se volviera de nuevo a la dosis de las 400 U/d.

En otro orden de cosas, y por lo que se refiere a la gente mayor que, como hemos visto, es deficitaria con frecuencia en vitamina D, se aconsejó por parte de la National Academy of Sciences de USA que los individuos por encima de los 50 años, recibieran diariamente entre 400 y 600 U (35); a día de hoy, sin embargo, existe consenso respecto a que aquellas personas mayores que viven en regiones poco soleadas durante el invierno las dosis deben elevarse hasta 800 U/d y aún a 1.000U/d si se desea que mantengan unos niveles de 25-OH-D superiores a 30 ng/ml. De hecho, y en algunos meta-análisis que se han efectuado (36), se reconoce que cuando las acciones preventivas sobre las caídas y fracturas se han llevado a cabo con dosis inferiores a las 800 U/d, no se han obtenido resultados positivos. Si, en cambio, cuando se han aplicado dosis de 1.100 U/d. En cualquier caso, este aumento de las dosis carece de relevancia en lo que

a posible intoxicación se refiere; hoy en día se acepta que dosis de 2.000 U/d, e incluso superiores, son perfectamente toleradas sin signos de intoxicación (35). Parece que ésta empieza solamente a producirse cuando la tasa plasmática de 25-OH-D supera los 88 ng/ml.

La importancia de mantener unos niveles normales de 25-OH-D ha sido repetidas veces subrayada, y tanto se considera así, que ya son varios los expertos que recomiendan que aquellos sean valorados anualmente por toda persona mayor, prefiriéndose ésta determinación, como más valiosa, a la comúnmente realizada de la colesterolemia.

Un aspecto diferente al uso de las dosis preventivas, sería el de sus posibles acciones terapéuticas. No vamos a referirnos a su empleo en el caso del raquitismo o del hipo y pseudohipoparatiroidismo, cuya importancia, dosis y utilidad se hallan perfectamente contrastadas. Nos referimos a los posibles beneficios que podrían derivarse de su aplicación en procesos tumorales y autoinmunes. En ambos casos, pero sobre todo en los cánceres, su utilidad podría ser manifiesta. Sucede, sin embargo, que las dosis para ello necesarias alcanzarían antes sus efectos tóxicos que los oncológicamente rentables. Y es por ello por lo que se están realizando grandes esfuerzos modificando la fórmula de la vitamina D para tratar de obtener un derivado que reuniera los requisitos de ser tan eficaz como inofensivo. Hasta la fecha no se ha conseguido (37).

BIBLIOGRAFÍA

1. AGUADO, P; GARCÉS, MV; CASAUS, ML, et al. (2000). «Alta prevalencia de deficiencia de vitamina D en mujeres posmenopáusicas de una consulta reumatológica de Madrid». *Med Clin* (Barcelona) 114:326.
2. HOLICK, M (2004). «Vitamin D importance in the prevención of cancers, type 1 diabetes, heart disease and osteoporosis». *Am J Clin Nutr* 3:362.
3. ZADSHIR, A; TAREEN, N; PAN, D, et al. (2005). «The prevalence of hipovitaminosis D among US adults: data from the NHANES III». *Ethn Dis* 15(4)(suppl)S5-97.
4. MACLAUGHLIN, J; HOLICK, M (1985). «Aging decreased the capacity of human skin to produce vitamina D3». *J Clin Invest* 76:1536-8.
5. HOLICK, M (2007). «Vitamin D deficiency». *N Eng J Med* 357:266.
6. BISCHOFF-FERRARI, HA; DAWSON-HUGHES, B; WILLET, WC, et al. (2004). «Effects of vitamina D on falls: a meta-analysis». *JAMA* 291:1999.
7. HEATH, KM; ELOVIC, EP (2006). «Vitamin D deficiency: implications in the rehabilitaci3n setting». *Am J Phys Med Rehabil* 35:916.

8. AHMED, W; KHAN, N; GLUECK, CJ, et al. (2009). «Low serum 25(OH)vitamina D levéis (<32 ng/ml) are asociated with reversible myositis-myalgia in statin-treated patients». *Transl Res* 153:116.
9. WANG, TJ; PENCINA, MJ; BOOTH, SL, et al. (2008). «Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease». *Circulation* 117:1503.
10. KENDRICK, J; TARGHER, G; SMOTS, GC, et al. (2009). «25-hydroxyvitamin D deficiency is independenty associated with cardiovascular disease in the third National Health and Nutrition Examination Survey». *Atherosclerosis* 295:255.
11. ZITTERMANN, A; SLEITHOFF, SS; KOERFER, R (2005). «Putting cardiovascular disease and vitamina D insuficiency into perspective». *Br J Nutr* 94:483.
12. FORMAN, JP; GIOVANNUCCI, E; HOLMES, MD, et al. (2007). «Plasma hydroxyvitamin D levels and the risk of incidence hypertension». *Hypertension* 49:1063.
13. BARTOSZEWSKA, M; KAMBO, M; PATEL, DR (2010). «Vitamin D muscle función and exercise performance». *Ped Clin N Am* 57:849.
14. LI, YC; KONG, J; CHEN, ZF, et al. (2002). «1,25-Dihydroxyvitamin D (3) is a negative endocrine regulador of the renin-angiotensin system». *J Clin Invest* 110:229.
15. CHIU, KC; CHU, A; GO, VL, et al. (2004). «Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction». *Am J Clin Nutr* 79:820.
16. WATSON, KE; ABROLAT, ML; MALONE, LL, et al. (1997). «Active serum vitamina D levels are inversely correlated with coronary calcification». *Circulation* 96:1755.
17. ZITTERMANN, A; SCHLEITHOFF, SS; GOTTING, C, et al. (2009). «Calcitriol deficiency and 1-year mortality in cardiac transplant recipients». *Transplantation* 87:118.
18. INGRAHAM, BA; BRAGDON, B; NOHE, A (2008). «Molecular basis of the potencial of vitamina D to prevent cáncer». *Curr Med Res Opin* 24:139.
19. PETERLIK, M; CROSS, HS (2006). «Disfunction of the vitamina D endocrine system as a common cause for múltiple malignant and other chronic diseases». *Anticancer Res* 26:2581.
20. GARLAND, CF; GARLAND, FC; SHAW, EK, et al. (1989). «Serum hydroxyvitamin D and colon cáncer eight year prospective study». *Lancet* 1:1176.
21. GARLAND, FC; GARLAND, CF; GORHAM, GW, et al. (1990). «Geographic variación in breast cáncer mortality in United States: a hipótesis involving exposure to solar radiation». *Prev Med* 19:614.
22. GRANT, WB; MOHR, SB (2009). «Ecological studies of ultraviolet B, vitamina D and cáncer since 2000». *Ann Epidemiol* 19:79.
23. GIOVANNUCCI, E; LIU, Y; RIMM, EB, et al. (2006). «Prospective study of predictors of vitamina D status and cáncer incidente and mortality in men». *J Nati Cancer Inst* 98:451.
24. FREEDMAN, DM; FUHRMAN, B; GRAUBARD, BI, et al. (2009). «Vitamin D and cáncer mortality». *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18:359.
25. PILZS, S; TOMASCHITZ, ZA; OBERMAYER-PIETSCH, B, et al. (2009). «Epidemiology of vitamina D insuficiency and cancer mortality». *Anticancer Res* 29:3699.

26. LAPPE, JM; TRAVERS-GUSTAFSON, D; DAVIES, KM, et al. (2007). «Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial». *Am J Clin Nutr* 85:1586.
27. CANTORNA, MT; ZHU, Y; FROICU, M, et al. (2004). «Vitamin D status 1,25-dihydroxyvitamin D3 and immune system». *Am J Clin Nutr* 80(suppl): 17175.
28. BEMISS, CI; MAHOU, BD; HENRY, A, et al. (2004). «Il-2 is one of the targets of 1,25-dihydroxyvitamin D in the immune system». *Am J Clin Nutr* 80 (suppl):17175.
29. YUNG, S; SMITH, C; PRAHL, J, et al. (1993). «Vitamin D deficiency suppresses cell-mediated immunity in vivo». *Arch Biochem Biophys* 303:98.
30. HYPONEN, E; LAARA, E; JARVELIN, M-R, et al. (2001). «Intake of vitamina D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study». *Lancet* 358:1500.
31. ACHESON, ED; BACHRACH, CA; WRIGHT, FM (1960). «Some comments on the relationship of the distribution of multiple sclerosis to latitude, solar radiation and other variables». *Acta Psychiatry Scand* 147(suppl):132.
32. AUER, DP; SCHUMANN, EM; KUMPFEL, T, et al. (2000). «Seasonal fluctuations of gadolinium-enhancing magnetic resonance image lesions in multiple sclerosis». *Ann Neurol* 47:1276.
33. EMBRY, AF; SNOWDON, LR; VIETH, R (2000). «Vitamin D and seasonal fluctuations of gadolinium-enhancing magnetic resonante image lesions in multiple sclerosis». *Ann Neurol* 48:271.
34. MUNGER, KL; ZHANG, SM; O'REILY, E, et al. (2004). «Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis». *Neurology* 62:60.
35. Standing comitee on the scientific evaluación of dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamina D and fluoride in Washington DC National Academy, 1997.
36. KALYANI, RR; STEIN, B; VALIYIL, R, et al. (2010). «Vitamin D treatment for the prevención of falls in older adults: systematic review and meta-analysis». *J Am Geriatr Soc* 58:1299.
37. EELLEN, G; GYSEMAN, C; VERLINDEN, L, et al. (2007). «Mechanism and potencial of the growth-inhibitory actions of vitamina D and analogs». *Curr Med Chem* 14:1893.

INTERVENCIONES

Prof. Seoane Prado

La excelente y muy didáctica ponencia del Prof. Casado suscita, junto a sus interesantísimas conclusiones, una pregunta de carácter meramente matemático. Al indicar que el 80 % de la población está por debajo de los niveles normales de vitamina D, ¿cuál es el nivel que se considera «normal» estadísticamente, dado que la casi totalidad de la población estaría por debajo?

Muchas gracias».

Prof. Pérez Pérez

La vitamina D ha sido siempre considerada como un factor de virilidad y estímulo sexual; de tal manera, que en los animales donantes de esperma a través de mi larga experiencia como director de Centros de inseminación artificial, administrábamos vitamina C para mejorar la calidad del eyaculado, y la vitamina D para conseguir elevar el tono y la actividad sexual de los animales donantes.

De otra parte, en los colectivos sometidos a singular actividad (heliofanía, tiempo de exposición a la luz ultravioleta), con el referido efecto se incrementa la actividad sexual.

En los tratamientos del raquitismo con vitamina D hay que tener en cuenta el efecto virilizante de esta vitamina.

En consecuencia, la vitamina D ha de considerarse como factor estimulante de la virilidad.

Prof. Rubia Vila

Quiero agradecer al Prof. Casado de Frías su elegante e interesante conferencia. Me ha llamado la atención la ubicuidad de los receptores para la vitamina D y quisiera preguntarle si se sabe dónde están localizados en el Sistema Nervioso Central. Si mal no recuerdo, el cerebelo tiene también receptores para esta vitamina, lo que podría explicar la hipotonía en la avitaminosis D, aparte de la afección local en los músculos posturales.

Prof. Blázquez Fernández

Creo que ha sido muy afortunada la elección que ha hecho de la vitamina D como tema de su excelente conferencia. Son muchos los aspectos relacionados con esta vitamina que aparecen día tras día y apoyan su participación en distintos procesos fisiopatológicos.

Condicionada por el tiempo en que fue descubierta recibió la denominación de vitamina D, que posiblemente en la actualidad hubiera recibido el nombre de hormona D, teniendo en cuenta que como estructura química y por su mecanismo de acción se asemeja más a una hormona esteroidea. Asimismo sus propiedades hormonales se hubieran relacionado con los derivados hidroxilados de la

vitamina D3: 25 hidroxicoalciferol producido en hígado y el 1,25 dihidroxicoalciferol formado en riñón, siendo éste último el que tiene mayor actividad biológica.

Dada la importancia de la vitamina D3 en diferentes procesos, se incluye como suplemento en muchos alimentos, como por ejemplo la leche. Por ello sorprende que se descubran tantas deficiencias de la vitamina D3 a pesar de los aportes que se realizan. Como consecuencia de esto mi primera pregunta va dirigida a conocer si estas deficiencias pueden estar relacionadas a distintas alteraciones en el metabolismo de la vitamina D3 en relación a cada una de las hidroxilaciones o bien a otras causas que puedan desencadenar resistencia a la acción de los derivados hidroxilados de la vitamina D3, como ocurre con otras hormonas.

Otra pregunta va encaminada al conocimiento del posible papel de estos derivados hidroxilados durante el desarrollo, especialmente en el período embrionario. Mucho se sabe de las hormonas durante la vida adulta pero mucho menos en la vida intrauterina, donde juegan papeles muy importantes.

De nuevo mi felicitación por su extraordinaria presentación.

Prof. Alonso Fernández

Felicitación efusiva al Prof. Enrique Casado por haber destacado con maestría singular el salto de la proyección de la importancia de la vitamina D en el biberón del niño a su fundamental interés en la alimentación y el estilo de vida del anciano.

Por mi parte quisiera plantear dos cuestiones; la primera de ellas, es que los dolores ocasionados por las estatinas también podrían deberse a la movilización de mecanismos biológicos depresivos, entre ellos el cuadro de la fibromialgia, ya que se ha constatado que la administración de estos valiosos fármacos, bien sea como un efecto secundario o por el descenso brusco o demasiado intenso de la tasa de colesterol global, está expuesto a la incidencia de cuadros depresivos o actos suicidas.

En este sentido, convendría llamar la atención de su falta de inocuidad para frenar la aplicación abusiva, ya que muchos enfermos con tasas de colesterol global cerca del mínimo, entre 160 y 170, siguen tomando estatinas «a todo pasto».

La otra cuestión se refiere a mi interpretación de atribuir la

mayor parte de la caída de los ancianos a un fallo de la coordinación visuomotora o a un déficit cognitivo, y en este sentido es probable que resulte conveniente integrar el marcador del calcio con la indagación de una tasa excesiva de homocisteína o deficitaria de vitamina B12 o ácido fólico.

Prof. Óscar Valtueña

Yo deseo participar en el coloquio de la Conferencia del Prof. Casado de Frías en primer lugar para agradecerle su magnífica puesta al día sobre la vitamina D, a cuya deficiencia ha calificado de pandemia y entre sus consecuencias inmediata el raquitismo.

A este respecto recuerdo con nostalgia por los años pasados, pues entonces fui el más joven de los Consultores españoles de la OMS, cómo tanto la OMS, como la FAO y la UNICEF, ya fuera en el background que me hicieron antes de volar a carios países francófonos africanos insistieron tanto o más que en la necesidad de impulsar las vacunaciones y en el cambio del tipo de alimentación infantil, constituida la mayoría de las veces por carbohidratos de plantas vegetales, en complementar la alimentación con dosis cotidianas de vitamina D.

En un principio como quiera que los niños africanos completamente desnudos estaban expuestos a un alto grado de insolación, me pareció una medida un tanto caprichosa. Pero cuando llegó la estación de las lluvias, con tres o cuatro meses sin que se viera que penetraba un solo rayo de sol por las lluvias tropicales y la espesa vegetación, cuando los niños no podían salir de sus chozas y hasta cambiaba la geografía natura de las regiones, es cuando pude darme cuenta que la deficiencia de vitamina D en los países tropicales es una auténtica pandemia, de acuerdo con la magnífica exposición del Prof. Casado.

LA REUTILIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

REUTILIZATION OF WASTEWATER

Por el Excmo. Sr. D. FRANCISCO GONZÁLEZ DE POSADA

Académico de Número

Resumen

Se aborda el problema de la reutilización de aguas residuales, con carácter general y visión global, sin pormenores científicos (físicos, químicos y biológicos) y técnicos, en el contexto de la grave situación que padece la humanidad por la extendida escasez de agua, en cantidad y calidad.

Abstract

The problem of the reutilization of waste water is dealt with, in general and with a global vision, without scientific (physical, chemical and biological) or technical details, in the context of the serious situation that humanity suffers due to the widespread water shortage in quantity and quality.

En el Discurso de ingreso en esta Real Academia Nacional de Medicina (1998) se establecieron los fundamentos de nuestra concepción acerca de los ámbitos disciplinares —raíces, contenidos y perspectivas— de la Arquitectura Sanitaria y de la Ingeniería Sanitaria.

Objetivos de esta comunicación pueden considerarse: una aproximación al estado de la cuestión de la *reutilización de aguas residuales* con una descripción somera de la problemática existente señalando la actualidad e importancia del tema. No se pretende hacer un estudio pormenorizado de los proyectos y descripción de las correspondientes obras de ingeniería sanitaria ni tampoco de los procesos

físicos y químicos en uso y en perspectivas. Más bien, sobre un trasfondo de temas generales, se destaca la necesidad de *tomar conciencia* acerca de los conflictos que tiene hoy la humanidad en su relación con el agua: medidas de ahorro, búsqueda de nuevas fuentes, potenciación de la reutilización.

En consecuencia, y en resumen: 1) Visión general de la problemática actual en torno al agua; 2) Más llamada a la conciencia que dedicación intrínseca a los temas concretos directos de ciencia y técnica; y 3) Establecer un marco de referencia para comunicaciones futuras de contenidos precisos científico-técnicos.

1. CONSIDERACIONES INTRODUCTORIAS

1.1. «Salud humana y disponibilidad de agua»

A modo de punto de partida se utiliza aquí, como introducción, y en forma de resumen, una *primera relación de ideas* expuestas en un trabajo anterior (2002) que concluía en forma de metáfora matemática expresando la salud humana como función de unas variables consideradas fundamentales de la forma siguiente:

a) Si se refiere a la sociedad, con la expresión genérica de ‘salud humana’:

$$\text{Salud humana} = f(\text{aire, agua, alimentación, medicamentos}),$$

b) Si se refiere a una persona, con la expresión ‘salud personal’:

$$\text{Salud personal} = f(\text{genética, ambiente}),$$

de modo que la genética representa el parámetro intrínseco de un ser humano concreto y el ambiente integra los parámetros extrínsecos actuales principales: agua, aire, alimentación y medicamentos del entorno geográfico y social de la persona.

El problema general de la «salud humana y disponibilidad de agua» así como numerosos subproblemas se insertan en el ámbito de la «Medicina preventiva y Salud social».

Con referencia al agua, la relación de agua y vida permitió destacar tres ideas fundamentales. Primera: a la luz de los conocimien-

tos actuales, todo parece indicar que en el agua tuvo lugar el origen de la vida en la Tierra. Segunda: el agua, constituyente básico de los seres vivos. Y tercera: el agua desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los seres vivos.

La ecuación básica expresa que la salud humana depende del agua, marco propio y principal de la Ingeniería Sanitaria (1998). En este contexto se destacaban (2002) otras cuantas ideas. Primera: el agua, estrictamente necesaria para vivir. Segunda: el agua es muy abundante en la Tierra ... pero en los océanos y mares donde es salada. Tercera: en los continentes el agua natural (no salada) hoy se presenta como escasa y está mal distribuida. Cuarta: el problema de la disponibilidad. Y quinta idea: la ingeniería sanitaria como medio de solución, planteando dos grandes cuestiones: 1) el abastecimiento de agua con el correspondiente tratamiento; y 2) la depuración de las aguas residuales.

Estas ideas se utilizaron como elementos de reflexión y debate (2007a) en el I Seminario de Estudio «*Acqua: Fons Vitae*» organizado por la Real Academia de Cultura Valenciana y la Fundación «Agua y Progreso». En este marco de ideas pueden citarse también las relevantes acciones de nuestro compañero Federico Mayor Zaragoza (1999 y 2010).

1.2. Agua y aire, aire y agua: de *bienes inagotables y gratuitos* a *bienes económicos*

El agua y el aire han sido considerados en la larga historia de la humanidad como *bienes inagotables y gratuitos*, mucho más el aire. Las poblaciones se establecían en lugares con agua dado que en todos había aire. Pero en nuestra actual etapa histórica se presentan paradójicamente tan abundantes (en cantidad) como escasos (en la calidad requerida en los lugares requeridos); por eso son ya ambos auténticos *bienes económicos*. Y aquí mucho más el agua. La salud humana aunque no sólo depende del agua, como se ha indicado, sí depende de ella de modo estrictamente necesario, de su disponibilidad y de su calidad.

Por lo que respecta al **aire** he dedicado una atención especial a su estudio y destacado su importancia en la Arquitectura como exigencia para la salud (1998). Durante unos diez años se ha desarrollado como curso de doctorado en la Universidad Politécnica de

Madrid y en la Real Academia Nacional de Medicina con el patrocinio del Instituto de España. Y con este trasfondo se ha organizado un reciente Ciclo de conferencias sobre «**Arquitectura Sanitaria**» (2011). Así hemos relacionado de manera especial el aire con la Arquitectura y el Urbanismo.

El **agua** ha constituido el núcleo de la **Ingeniería Sanitaria** y aquí nos encontramos. Era abundante, relativamente gratis o muy barata, para todos, de sobra, regalo de la Naturaleza. Pero aquellos tiempos se acabaron. Y no hace tanto de ellos en casi todas partes y casi siempre. **El agua es un recurso imprescindible para la vida.** El reconocimiento de esta realidad lleva implícito el **derecho universal de acceso al agua y al saneamiento**. La primordial cuestión es su disponibilidad. En los «Objetivos de desarrollo del Milenio» del año 2000, relacionados directamente con el agua, reducir a la mitad el porcentaje de personas sin acceso al agua y al saneamiento, parece ser, con la incertidumbre inherente a cualquier proyección, según el último informe disponible, que el primero podrá cumplirse en torno al año 2015 pero de ninguna manera el relativo al saneamiento pese a su gran incidencia sobre la salud. La ley española de Aguas de 1879 ya destacaba el carácter de **bien público**.

El 28 de julio de 2010, la **Asamblea General de la ONU** aprobó la Resolución 64/292 que establece que la Asamblea General:

1. Reconoce que el derecho al agua potable y al saneamiento es un **derecho humano esencial** para el pleno disfrute de la vida y de todos los derechos humanos.
2. Exhorta a los Estados y las organizaciones internacionales a que proporcionen recursos financieros y propicien el aumento de la capacidad y la transparencia de tecnología por medio de la asistencia y la cooperación internacionales, en particular a los países en desarrollo, a fin de intensificar los esfuerzos por proporcionar a toda la población un acceso económico al agua potable y al saneamiento.

El aire y el agua, Arquitectura Sanitaria e Ingeniería Sanitaria, constituyen piezas capitales de la Medicina Preventiva y de la Salud Pública.

1.3. Acerca de la historia del agua en el siglo XX: de 'hulla blanca' a 'oro azul'

Para una valoración adecuada del problema que atosiga a una parte importante de la humanidad parece conveniente por mediación de las metáforas 'hulla blanca' y 'oro azul' comprender fácilmente el proceso del papel del agua desde comienzos del siglo XX a comienzos del XXI (2007b).

En el gozne de los siglos XIX a XX el agua era abundante, muy abundante para la satisfacción de las necesidades de la humanidad de la época en líneas generales. Tanto que constituyó la fuente de energía básica para la exigente producción de energía de la creciente revolución industrial de esta etapa de la humanidad: la energía hidroeléctrica como sustituta del carbón: la «hulla blanca», limpia, abundante y barata. Todavía en los años 60 cuando acabé la carrera de Ingeniería de Caminos, Canales y Puertos y me integré en el Laboratorio de Hidráulica del Centro de Estudios Hidrográficos, la revista considerada de máximo prestigio era «La Houille Blanche», referencia mundial.

Así la «hulla blanca» (limpia) podía retirar el carbón —«hulla negra» (sucía)— y constituirse en primordial fuente de energía tras los progresos en las turbinas. No sólo daba de beber sino que aportaba para la época grandes cantidades de energía.

Hoy el agua se ha convertido en «oro azul», es escasa, cara, y, más aún, causa de guerras presentes y de las que se vislumbran para el futuro.

Ésta es una de las características de la historia humana del siglo XX a la que no se concede la importancia que tiene: el tránsito de bien abundante, barato y utilizable en cantidad y calidad para producción de energía a bien escaso, caro y sólo utilizable como fuente de extrema calidad («centrales de punta» se les llama) en la producción de energía dentro de las denominadas *renovables*. El acceso al desarrollo de unos y el creciente desarrollo de otros pone de manifiesto la necesidad de recursos hídricos adicionales.

En la actualidad, en síntesis apretada y a modo de resumen de ideas básicas, pueden establecerse las siguientes.

Primera. El agua es *condición esencial para la vida*.

Segunda. El agua es indudablemente un *bien económico y social*.

Tercera. El acceso al agua potable es un *derecho fundamental*, por serlo el derecho a la vida, ya que ésta es indisociable del agua: «el agua es vida».

Cuarta. El agua es una *exigencia ética*.

Quinta. El agua es una *necesidad urgente* para la vida de numerosas personas.

Sexta. El agua es un *desafío histórico* en la actualidad para la humanidad.

2. UNAS NOTAS ACERCA DEL ABASTECIMIENTO DE AGUA

El proceso general de la problemática del agua en el ámbito de la ingeniería integral, en síntesis, los siguientes pasos: recoger, acumular, conducir (canales, acueductos, trasvases), distribuir, usar, depurar, regenerar, reutilizar, ... y producir (desalar, etc.).

2.1. Las respuestas tradicionales de abastecimiento de agua

La disposición de agua en los tiempos más recientes no ha exigido el establecimiento de la vida en las orillas de un río con caudal suficiente para toda la población y de manera estable. El agua no es un recurso que esté inmediatamente accesible en la práctica, y menos en países como España con escasa e irregular disponibilidad de recursos hídricos; siempre son necesarias infraestructuras para satisfacer nuevas necesidades. La ingeniería civil supo resolver el problema del abastecimiento a las ciudades mediante el aprovechamiento de las aguas superficiales y de las aguas subterráneas de manera eficaz.

Por lo que respecta a las aguas superficiales el problema se resolvía mediante la construcción de presas en cerradas adecuadas constituyendo embalses de captación y acumulación. Éstos podían tener usos diversos, prioritariamente para consumo humano, uso agrícola o producción de energía hidroeléctrica.

La garantía de adecuada potabilidad exigió estaciones de tratamiento y depósitos a la entrada de las ciudades para su distribución por la red urbana. A fin de cuentas, obras de captación, regulación, canalización, acueductos, etc. He tenido la oportunidad profesional de participar en numerosos de estos eventos de ingeniería hidráulica: presas de El Pardo en el río Manzanares para regulación de avenidas y control del caudal del río en Madrid; de Riaño, para regadío y producción eléctrica; de Añarbe, para abastecimiento de agua

a San Sebastián; de El Gergal, para abastecimiento a Sevilla; encauzamientos de los ríos Tajo en Aranjuez y del Llobregat y Noya en Martorell; recrecimiento de las presas de Iznájar y de Bolarque; en ésta aliviadero y central reversible, en el origen del trasvase Tajo-Segura; presas en los grandes embalses del río Nizao en la República Dominicana: Valdesia y Hatillo; Torre de Compensación de Majadahonda para el abastecimiento a Madrid, Sistema Oeste; Canal de El Vellón; etc.

Mediante pozos y estaciones de bombeo se utilizan las aguas subterráneas que tras un adecuado tratamiento pueden también introducirse en la correspondiente red hidráulica urbana de distribución.

Quizás sólo quede en esta introducción señalar que el tratamiento de estas *aguas potables*, anterior a su distribución para el consumo, es de diferente naturaleza al de las *aguas residuales*, objeto primordial de esta comunicación. E indicar que complemento esencial del abastecimiento es el saneamiento.

2.2. La problemática actual: escasez en cantidad y calidad

El agua, sustancia vital para la humanidad, se ha convertido en un motivo de preocupación mundial en las últimas décadas. El incremento demográfico, la industrialización de los países más desarrollados, la creciente contaminación, las variaciones climáticas y las prácticas ineficaces de la gestión del agua, ha dado lugar a situaciones de pronunciado desequilibrio en el balance hídrico en determinadas zonas pobladas del planeta, especialmente en aquellas regiones áridas o semiáridas.

La escasez de agua en el mundo es un problema y su consumo en las zonas industrializadas crece a pasos agigantados. Esta situación obliga a la obtención de agua potable por distintas vías.

El creciente descenso del volumen por persona y de la calidad de las reservas existentes de agua, junto a los principios aceptados de la conservación del medio ambiente a través de un desarrollo sostenible, ha dado lugar al planteamiento de soluciones alternativas que puedan paliar el déficit de recursos naturales directos de agua dulce: el problema de máxima actualidad de la escasez, en cantidad y calidad.

2.3. Unas respuestas actuales para el abastecimiento

Haré referencia a tres tipos posibles de soluciones muy diversas entre sí y todas objeto de enormes controversias desde diferentes perspectivas. Los problemas del agua están unidos al del **desarrollo sostenible** en el planeta. El actual calentamiento global, expresado usualmente con la versión débil de cambio climático, modifica la disponibilidad y las necesidades de agua.

Primera. Una solución tradicional pero de problemática actualidad es la denominada **trasvases** entre cuencas, problema que en el caso de España se ha agravado enormemente con la creación del ‘estado de las autonomías’ y de importante transferencia de competencias sobre el agua a las mismas. Los trasvases constituyen, sin ningún género de dudas, en determinados casos obviamente, una adecuada solución. (El caso más significativo en la actualidad en España es el discutido trasvase del Ebro, de tal manera que se le dice no, no sólo en Aragón sino también en Cataluña, donde se acepta como elemental el trasvase desde el Ródano hasta Barcelona). **Transferencias** de caudales entre ámbitos diversos, cuencas distintas e incluso distantes. En todo caso, los trasvases exigen la construcción de grandes infraestructuras de transporte de agua.

Segunda. La **desalación** de agua de mar, proceso iniciado en España para Lanzarote por mediación de nuestro amigo y compañero Manuel Díaz Rijo (2007). Solución indiscutible en casos como los de una isla desértica. Otro problema es hasta cuánto (exceso de población, consumo de energía, etc.) hay que desalar.

Tercera. Producir agua dulce de la **niebla** para lo que existen tecnologías disponibles y a precios razonables.

Cuarta. De apariencia disparatada y aún no puesta en práctica es el **transporte de gigantescas masas de hielo** desde la Antártida, por ejemplo, al Yemen y Arabia Saudita o al Sáhara.

Y quinta. La **regeneración de aguas residuales** para su **reutilización**.

2.4. La respuesta alternativa asumida como solución actual de carácter general

Con la expresión ‘carácter general’ se pretende abarcar el «en todas partes siempre» (países desarrollados y en vías de desarrollo y estructuralmente no sólo coyunturalmente).

En resumen, las necesidades actuales de agua de abastecimiento conducen a las siguientes conclusiones.

Primera. Hay **poca cantidad** de agua para las necesidades del mundo moderno.

Segunda. Hay mucho que trabajar —gastar adecuadamente— para disponer de agua de **calidad** suficiente para la salud.

Tercera. Necesidad de proyectos relativos a que la poca cantidad pueda reutilizarse mediante los procesos de depuración y **regeneración** por las condiciones medioambientales y el desarrollo sostenible.

Y cuarta. Ante la escasez existente debe recurrirse a la **reutilización**.

3. DEPURACIÓN Y REGENERACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

3.1. De *residuo* a *recurso*

Se ha señalado como problema de máxima actualidad la escasez, en cantidad y calidad, del agua. En estudios de prospectiva suele considerarse que para el año 2050 vivirían en las ciudades de países en desarrollo casi 3.000 millones de personas más que ahora y que debido a esta presión demográfica unida a los efectos del calentamiento global más de 1.000 millones sufrirían escasez de agua; y en esto de ordinario no se abordan ni el problema de la calidad ni el de las infraestructuras necesarias para el suministro. Así, se ha puesto sobre el tapete mundial el problema de la regeneración y de la posterior reutilización de las *aguas residuales* no sólo como *una* posible respuesta sino como *la* solución. Ésta con carácter general debido también a las exigencias medioambientales, de modo que se complementaría en determinados lugares con una necesaria desalación.

En el desarrollo de lo que ahora se inicia, aunque existe una amplia bibliografía que ofrece matices diferenciadores, soy deudor principal de mi amigo y colega Sebastián Delgado Díaz (2009) de quien selecciono ideas, estructura y bibliografía básica.

Con la consideración de **nuevo recurso**, las aguas residuales regeneradas, debidamente gestionadas, ofrecen un futuro prometedor en un marco de **desarrollo sostenible** mediante un uso racional y eficiente del agua. Así, el reto de la sostenibilidad mediante la regeneración de las aguas residuales y su reutilización constituye un tema de creciente actualidad. De esta manera se ha establecido como al-

ternativa viable, dadas las dificultades de diversos tipos de las restantes alternativas —trasvases, desalación, transporte de masas de hielo—, la *reutilización de las aguas residuales*, una vez regeneradas y adecuadas al uso o destino final.

A modo de noticia histórica, establecida ya con la consideración actual del agua residual como recurso, en vez de residuo, su práctica comienza hacia 1960, en los Estados Unidos, con la puesta en marcha de un proyecto de gran alcance de reutilización planificada, destinado a la recarga de acuíferos en California con agua residual regenerada, pero teniendo en cuenta que deben utilizarse tecnologías avanzadas de tratamiento del agua para garantizar la ausencia de riesgos de contaminación en las masas acuáticas de los acuíferos recargados.

Se considera que un proyecto de regeneración de aguas residuales exige dos requisitos básicos.

Primero. La definición de los niveles de calidad adecuados a los usos que se le vaya a dar al agua regenerada.

Segundo. El establecimiento de los procesos de tratamiento para alcanzar los límites de calidad para cada uno de los usos previstos.

En la figura 1 se representa la calidad relativa de las aguas naturales, potables y residuales, y los niveles conseguidos en función de su tratamiento.

Los procesos de tratamiento de las aguas residuales han logrado importantes avances en los últimos años en los que se ha aumentado apreciablemente la capacidad de numerosos países para producir aguas regeneradas. Dos son las principales características que deben aunar estos procesos: que el agua efluente sea de calidad aceptable y que se obtenga a costes moderados. La solución sirve como alternativa en la contribución a paliar la escasez de los recursos naturales directos de agua, especialmente en aquellos países con alto desequilibrio del balance hídrico.

El agua residual no sólo es *recurso* sino que se produce de manera prácticamente continua, de modo que se convierte en *fuentes permanente* de agua.

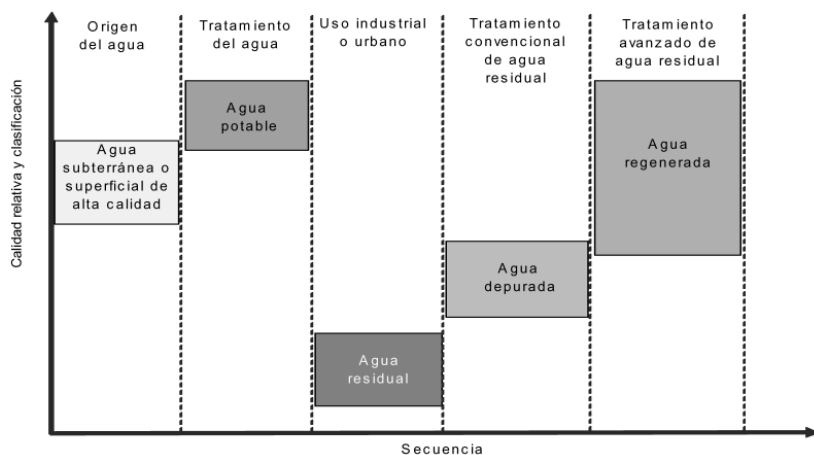


FIG. 1. Calidad relativa del agua según el uso y tratamiento.

3.2. Tecnologías de *depuración* y de *regeneración* de aguas residuales

El tratamiento de *depuración* y *regeneración* de las aguas residuales persigue la eliminación de *contaminantes* físicos, químicos y biológicos que contienen las aguas tras el uso humano. Estas *aguas residuales* han sido generadas en las viviendas, locales comerciales, industrias de todo tipo, hospitales, etc. A ellas se unen de ordinario (cuando no hay implantación de sistemas duplicados) las pluviales con todo lo que arrastran. (Por lo que se refiere a contaminantes del agua se aprecia progresiva y notablemente un fuerte crecimiento de sustancias farmacéuticas).

El objetivo del tratamiento consiste en lograr: a) un efluente tratado que pueda considerarse *agua limpia* para su reutilización en sustitución del *agua residual* afluente; y b) un residuo sólido y/o fango también reutilizable con algún propósito.

El tratamiento, en general, consiste en un conjunto de sucesivos procesos físicos, químicos y biológicos que se enumeran a continuación en síntesis apretadas sin descripciones técnicas ni especiales desarrollos científicos.

Las técnicas utilizadas pueden clasificarse y denominarse de diferentes maneras. Partimos de la expuesta por Delgado (2009) en *convencionales* y *nuevas*.

a) *Tecnologías convencionales*

Lo establecido como *convencional* en el tratamiento de las aguas residuales integra un conjunto de procesos y operaciones, dispuestas en forma secuencial, que tienen por objetivo la separación de los componentes contaminantes de las aguas, y constan generalmente de tres etapas consecutivas.

La *primera etapa* tiene por objeto la separación o eliminación de las *sustancias sólidas*, de tamaños relativamente *grandes*, junto a los *aceites y grasas* presentes en el agua. Para ello se utilizan procesos mecánicos y físicos y al conjunto se le denomina usualmente *pretratamiento*.

La *segunda etapa* está destinada a separar los *sólidos en suspensión de pequeño tamaño* que pueden sedimentar a una velocidad apreciable. Es la etapa de *sedimentación primaria* o *tratamiento primario*.

La *tercera etapa* pretende la eliminación de la *materia orgánica* disuelta en el agua, no separable por métodos físicos tradicionales. Cuando esta materia orgánica disuelta es *biodegradable*, el *proceso de oxidación biológica* es el más efectivo y económico, por lo que es el más utilizado en la práctica común. Los microorganismos, de varias especies, pero principalmente bacterias, utilizan como alimentación la materia orgánica del agua, en presencia de oxígeno, para su actividad vital y para su reproducción; estas *bacterias activas* se separan del agua y se devuelven al reactor biológico para aumentar su concentración e incrementar así la efectividad en la depuración del agua. Esta separación se realiza en los sistemas convencionales en un clarificador que actúa por gravedad, clarificador secundario, y constituye el denominado *tratamiento secundario*. El agua sobrenadante constituye el efluente secundario de la planta de tratamiento, y generalmente es apto para vertido a través de *emisarios submarinos*.

Sin embargo, si este efluente se desea reutilizar en diferentes aplicaciones, es necesario someterlo a otros tratamientos para proporcionarle la calidad exigible a la aplicación oportuna (*aguas regeneradas*). Al conjunto de tratamientos adicionales se le denomina *tratamiento terciario*.

La reutilización de las aguas residuales tratadas requieren de tratamientos terciarios avanzados, entre los que se incluye la filtración por arena, la desinfección, la desalinización, la micro y ultrafiltración por membranas, y otras.

El esquema genérico del tratamiento convencional de las aguas residuales domésticas se presenta en la figura 2.

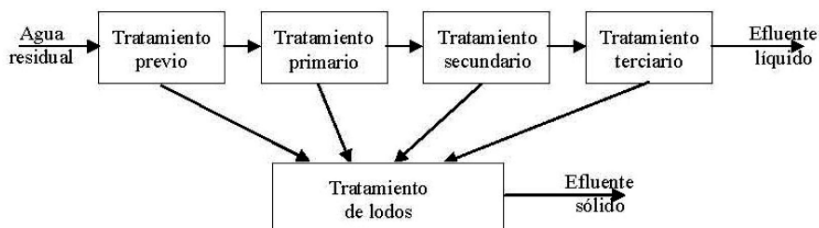


FIG. 2. Etapas del tratamiento convencional de las aguas residuales.

b) *Las nuevas tecnologías: reactores biológicos de membranas*

Las normativas sobre calidad de los vertidos a masas acuáticas, cauces de ríos, bahías, lagos, etc., especialmente en zonas declaradas como sensibles, son cada vez más exigentes, lo que ha llevado a sustituir el término tratamiento de *depuración* por el de *regeneración* de las aguas residuales, de forma que los procesos aplicados sean capaces de proporcionar efluentes de calidad de agua prácticamente equivalente a la que tenía antes de su uso. Para conseguir esa calidad es necesario aplicar tecnologías más sofisticadas y más caras que las utilizadas en los procesos convencionales.

Entre las tecnologías de membrana para la regeneración de aguas residuales (que se utilizan cuando el uso previsto justifica el precio final y en todo caso si piensa utilizarse como agua de bebida) pueden citarse: microfiltración (eliminación de sólidos en suspensión del orden de 10^{-7}m), ultrafiltración (10^{-8}m), nanofiltración (10^{-9}m), ósmosis inversa, electrodiálisis reversible y electrodesionización.

Entre las tecnologías intensivas de regeneración emergentes de mayor éxito en el mercado internacional para la regeneración de aguas residuales pueden considerarse *membranas de ultrafiltración* en combinación con el proceso biológico de lodos activados, dando lugar a la denominación de *Reactores Biológicos de Membranas (RBM)* o *biorreactores de membrana*.

Un RBM es esencialmente un proceso de lodos activados en el que se ha sustituido el clarificador de separación de biomasa por un

sistema de filtración por membranas de ultrafiltración, que actúa de barrera total frente a sólidos en suspensión (incluye bacterias y gran parte de virus). La mayoría de los RBM actuales tienen las membranas de ultrafiltración sumergidas en el reactor, en contacto con la biomasa bacteriana en suspensión.

Las nuevas tecnologías de membranas se están imponiendo a gran velocidad en el mercado pero sus costes son aún elevados. El problema principal está en el ensuciamiento de las membranas durante la filtración, fenómeno todavía pendiente de resolver definitivamente, pues los mecanismos son muy complejos, especialmente cuando intervienen procesos biológicos acoplados, como en este caso.

c) *Tecnologías de desinfección para regeneración*

Entre éstas, a las que dedicaremos especial atención en otro momento, pueden señalarse: 1) ozonización, principalmente contra virus y bacterias; b) dióxido de cloro, sustitutivo de la tradicional cloración (cloramina) que es un oxidante efectivo y buen biocida; y c) radiación ultravioleta que actúa sobre los ácidos nucleicos y las proteínas anulando la reproducción de determinados patógenos.

4. REUTILIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES

4.1. Usos de las aguas residuales regeneradas

Las aguas residuales *regeneradas* se están empleando en diferentes usos, de los cuales los más destacables son los siguientes.

Reutilización urbana

La reutilización urbana consiste en satisfacer las *necesidades secundarias* de agua en las ciudades, tales como parques y jardines, incendios, lavado de calles y automóviles, fuentes, lagos recreativos, patios, cisternas de sanitarios e instalaciones deportivas; y complementariamente otras necesidades como riegos de medianas de autopista, cementerios, campos de golf (caso singular que genera a veces tensiones sociales), etc.

Se han desarrollado, y progresivamente establecido en numerosas ciudades, especialmente en aquellas donde el consumo es muy

elevado, *sistemas duales* de distribución de aguas, mediante segregación de las redes de suministro de agua potable de las redes de agua no potable.

Las aguas residuales urbanas regeneradas, con calidad físico-química y sanitaria adecuada, constituyen un recurso apto para las consideradas necesidades secundarias.

Reutilización agrícola

Las mayores necesidades de agua en el mundo se presentan en la agricultura; se considera que es del orden del 70% la demanda mundial de agua para este uso.

La reutilización agrícola constituye la aplicación más extendida del agua residual regenerada, tanto para cultivos hortícolas como de cultivos con procesamiento posterior. En los productos de huerta, de apreciable consumo crudo, hay que controlar adecuadamente la regeneración de las aguas de riego que suponen una mayor producción agrícola, ya que, con frecuencia, estas aguas constituyen vehículos de abonos, por el peligro de contaminación.

Entre las políticas actuales pueden considerarse: a) potenciación del ahorro; b) elección adecuada del tipo de cultivo a la disponibilidad de agua; y c) establecimiento de precios reales (dados los costes extras asociados a la 'producción' y al transporte del agua).

La utilización de estas aguas residuales como recurso para riego permite considerarlas como riego localizado, bien como aspersión y goteo, o bien por inundación; de modo que se convierte en un recurso indispensable para poder mejorar la productividad agrícola en aquellos lugares con escasez de agua. Suponen un recurso de bajo coste, y tal que a él se unen otros beneficios como la mejora de los rendimientos agrícolas, el ahorro de fertilizantes, y un aumento en la protección contra los daños de las heladas. En países áridos como, por ejemplo, Egipto, Israel o Túnez, el agua regenerada representa un factor esencial para la producción agrícola.

Reutilización industrial

Dos aspectos importantes deben destacarse en este punto. Por una parte, la necesaria depuración *in situ* en algunos casos especiales mediante reciclado del agua, lo que se realiza con éxito en va-

rias industrias. Por otra parte, de modo análogo al uso urbano y agrícola, las aguas residuales urbanas regeneradas se utilizan también como un recurso externo para diferentes aplicaciones industriales, principalmente agua de refrigeración y agua de procesos.

De manera especial se consideran las industrias papeleras, las centrales térmicas y las industrias siderúrgicas. La industria minera también ha adoptado el uso de estas aguas en refrigeración, transporte o agua de proceso.

Recarga de acuíferos

Un capítulo de sumo interés es el de la recarga de acuíferos con aguas residuales regeneradas. Entre los objetivos de esta recarga artificial pueden considerarse los siguientes:

Primero, y sobre todo, el importante papel que puede jugar en la *reutilización potable indirecta planificada*.

Segundo, la detención del descenso de los niveles del agua subterránea debido a la sobreexplotación.

Tercero, la protección de los acuíferos costeros frente a la intrusión marina.

Y cuarto, el almacenamiento de las aguas superficiales para usos futuros.

El grado de regeneración necesaria exigible para obtener un agua de calidad apropiada para la recarga subterránea depende de las características hidrogeológicas del acuífero, y de la cantidad y porcentaje de agua regenerada aplicada. Entre los factores más importantes para la aceptación de un proyecto de recarga de acuíferos con agua regenerada destacan los asociados a los efectos adversos relacionados con la salud pública, que pueden derivarse de la introducción de microorganismos patógenos o cantidades traza de compuestos tóxicos en el agua subterránea, que posteriormente sería consumida por los humanos.

Reutilización potable

La reutilización potable, siempre *planificada* (es decir, con fijación de objetivos concretos bien programados), de las aguas regene-

radas se clasifica en dos categorías: a) reutilización potable indirecta; y b) reutilización potable directa.

La *reutilización potable indirecta planificada* pretende incrementar los recursos destinados a agua potable mediante la mezcla de las aguas regeneradas con las naturales, en proporciones y calidades muy controladas, para su posterior potabilización y suministro como agua de consumo.

La *reutilización potable directa planificada* significa que el agua regenerada con calidad potable se mezcla directamente en la red de distribución de agua de consumo.

Hasta el presente las cantidades de agua regenerada reutilizadas directamente como agua potable son pequeñas, pero el interés, tanto desde el punto de vista tecnológico como de salud pública, es creciente. Estas experiencias han originado un fuerte debate que ha conducido a la formulación de rígidos criterios y estándares de reutilización del agua depurada como agua potable. No puede olvidarse que el origen de estas aguas despierta recelos en los posibles usuarios. En todo caso requiere la aplicación extrema del considerado *principio de precaución*: las aguas regeneradas deben ser fruto de la utilización de los mejores conocimientos técnicos y científicos disponibles en cada momento y con control extremo de garantía sanitaria.

4.2. Consideraciones de actualidad

En la actualidad, las aplicaciones más importantes de las aguas residuales regeneradas son la reutilización urbana, en la que puede incluirse el uso recreativo y parte del medioambiental, la reutilización agrícola y la recarga de acuíferos. La reutilización potable directa, que no es de gran demanda en la actualidad, presenta uno de los retos más importantes de la reutilización del agua regenerada desde el punto de vista tecnológico, económico y social.

Por lo que respecta a tendencias en la reutilización de aguas residuales, la tecnología a utilizar depende del tipo de uso del agua regenerada y de los criterios de calidad, físico-química y sanitaria, que requiera cada aplicación.

Los efluentes secundarios, obtenidos de los tratamientos biológicos convencionales, no suelen alcanzar la calidad adecuada para la mayor parte de las aplicaciones, por lo que necesitan de un trata-

miento terciario, o de una nueva tecnología que resulte más eficiente en su conjunto para alcanzar la calidad precisa. El uso de membranas de micro y ultrafiltración para el tratamiento de efluentes secundarios clarificados es ya una tecnología convencional, que logra una alta calidad en el agua producto y prácticamente libre de bacterias.

Las *membranas de ósmosis inversa* y la *desinfección* con diferentes agentes, como etapa avanzada final de regeneración de aguas, suelen proporcionar efluentes de calidad potable.

La confianza en el uso de las aguas regeneradas, y con ello la aceptación por parte de todos los agentes implicados, está vinculada a un conjunto amplio y complejo de factores socio-económicos, pero se consideran prioritarios los relacionados con la calidad sanitaria y físico-química del agua, el coste, la garantía de suministro y la eficacia de las empresas encargadas de su gestión.

4.3. Normativas sobre la reutilización de las aguas

Las normativas y guías sobre calidad de aguas para vertido y para reutilización de este recurso son cada vez más exigentes, lo que implica el uso de tecnologías eficientes capaces de proporcionar efluentes de muy alta calidad que garanticen la seguridad sanitaria y ambiental a costes moderados.

Entre los documentos de esta naturaleza pueden recordarse: 1) «Objetivos de Desarrollo del Milenio», de la ONU 2000; 2) «Directiva Marco del Agua» de la Unión Europea, 2000, Directiva de la UE 91/271; 3) En España, el Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, que establece el régimen jurídico de la **reutilización de las aguas depuradas (Ministerio de la Presidencia, 2007)**, de modo que, además de establecer mecanismos legales que permiten disponer del agua residual depurada como recurso alternativo, se impulsan planes de reutilización y de uso más eficiente del agua.

4.4. A modo de conclusiones

Primera. Puede afirmarse que las **aguas residuales regeneradas** constituyen un **recurso hídrico no convencional** importante en el marco de la gestión sostenible del agua.

Segunda. La **reutilización** de las aguas regeneradas en diferentes aplicaciones constituye hoy una **práctica extendida en el mundo**, y de forma intensiva en zonas áridas y semiáridas.

Tercera. En perspectiva de futuro, **nuevas tecnologías, exigencia de calidad sanitaria, marco jurídico adecuado y gestión eficaz del agua** son las cuatro líneas que deben confluir para paliar la escasez de agua. Instrumento útil pero no panacea definitiva por su coste.

APÉNDICE. UN CASO SINGULAR: LA SALIDA AL ESPACIO

A modo de apéndice conviene señalar el caso de reutilización de agua residual en su máxima expresión actual: la *Estación Espacial Internacional* (la ISS, su acrónimo en inglés), en clave de mirada hacia el futuro.

El horizonte que se ha abierto la humanidad en las últimas décadas como radicalmente novedoso es el de la exploración y posterior colonización del espacio exterior: naves espaciales, estaciones (de momento solo) en órbita terrestre, la ya preconcebida base en la Luna y la ciudadela o colonia en fase preproyectada en Marte.

Pero esta vida futura, en lo que respecta al tema objeto de reflexión, es ya presente, bien presente, en la referida *Estación Espacial Internacional*. En ésta se presentan como capitales los problemas de aire —puro y confortable— y agua —potable—, sin que existan propiamente como fuentes.

En la ISS se manifiesta de manera excepcional la consideración del agua (y la del aire) como bien escaso que debe cuidarse, preservarse. Según comunican llevar agua a la estación supone un coste de unos 36.000 euros/litro, precio considerado prohibitivo. Es fácil hacer unas elementales operaciones para conocer el gasto total (número de astronautas x litros diarios necesarios por persona x número de días en la estación) para comprender que las agencias espaciales hayan tenido en cuenta la cuestión de modo especial: es necesario ahorrar y reutilizar el agua. Tras la cantidad inicialmente existente, las fuentes de que se dispone son las producidas:

- 1) por los propios astronautas mediante: a) la humedad de la respiración y del sudor; b) la orina; y c) la procedente de la higiene personal;

- 2) en su caso, la transpiración de plantas y lo análogo a lo humano de los animales; y
- 3) la de las pilas de combustible de generación de electricidad.

El procedimiento para la regeneración, a excepción de la orina, es el común, básicamente referido en el punto precedente. Y el procedimiento a que se somete la orina, consiste en un proceso previo de destilación por el que se vaporiza a presión reducida para producir vapor de agua que se envía a un compresor y una vez comprimido a un condensador. La calidad se controla a la salida prioritariamente por su conductividad y si se considera necesario se redestila. A continuación se mezcla con el resto de las 'fuentes' para su regeneración y posterior utilización. Así, la reposición necesaria de *agua nueva* —carísima— es mínima.

Se afirma que la calidad obtenida tras los sucesivos procesos de regeneración en la ISS es igual o superior a la distribuida en muchas redes municipales. El agua regenerada no sólo se utiliza para consumo de los astronautas (bebida, comida, aseo) sino también para la producción de oxígeno mediante su electrolisis.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, J. *et al.*, (2001). «Climbing the ladder: a step by step approach to international guidelines for water recycling». *Water Science & Technology*, 43 (10), pp. 1-8.
- ASANO, T. (1998). «Wastewater Reclamation and Reuse». *CRC Press Technomic Publishing Company*, Inc. USA.
- ASANO, T. y TCHOBANOGLOUS, G. (1995). «Drinking repurified wastewater». *Journal of Environmental Engineering (ASCE)*, 121 (8).
- ASANO, T. (2006). *Water Reuse: Issues, Technologies and Applications*. Met Calf & Eddy y AECOM. McGraw-Hill.
- CEDEX (1999). Borrador de Decreto sobre utilización de aguas residuales, no publicado.
- DELGADO, S.; RODRÍGUEZ-GÓMEZ, L.; VERA, L.; DÍAZ, F; RODRÍGUEZ, J.; ÁLVAREZ, M.; MARTEL, G. (2008). «La reutilización del agua depurada en Canarias. ¿Expansión o estancamiento?». *Anuario del Instituto de Estudios Canarios*, L-LI, [2006-2007] Vol. II, 819-827.
- DELGADO DÍAZ, S., (2003). «Tendencias en la reutilización de aguas. El caso de Tenerife». *Tecnología del Agua*, n.º 236, pp. 30-42.
- DELGADO DÍAZ, S. (2009). «Presente y futuro de la reutilización de aguas en Canarias». Academia de Ciencias e Ingenierías de Lanzarote. Discurso académico, n.º 31. www.academiadelanzarote.es.

- DÍAZ RIJO, M. (2007). «El agua potable en Lanzarote». Academia de Ciencias e Ingenierías de Lanzarote. Discurso académico, n.º 23. www.academia.delanzarote.es.
- FCCA (2005). Fundación Centro Canario del Agua (www.fcca.es).
- GONZÁLEZ DE POSADA, F. (1998). *Consideraciones de naturaleza prioritariamente física ...: Arquitectura e Ingeniería Sanitarias*. Discurso de ingreso. Real Academia Nacional de Medicina. Madrid.
- (2002). «Salud humana y disponibilidad de agua» en Villanúa, L. (Coord.) (2002). *La Salud, prioridad en el VI Programa de Medio Ambiente de la Unión Europea*, pp. 163-182. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia.
- (2007a). I Seminario de Estudio «Acqua: Fons Vitae» en el Real de Faula, Benidorm, organizado por la Real Academia de Cultura Valenciana y la Fundación «Agua y Progreso», del 10 al 13 de abril de 2007, pendiente de publicación.
- (2007b). Conferencia inaugural del Curso «Tecnologías de membranas en la regeneración de aguas residuales» desarrollado por los profesores Sebastián Delgado Díaz y José Luis Pérez Talavera en la Universidad de La Laguna, dictada el 26 de noviembre de 2007, de título «El agua: de 'hulla blanca' a 'oro azul'».
- (Coord.) (2011). Ciclo de conferencias «Arquitectura Sanitaria». Real Academia Nacional de Medicina. Pendiente de su publicación en un libro.
- HARRIS, R. (1999). *Water Environment and Technology*, vol. 11, n.º 6, pp 8-9.
- HULTQUIST, R.H.; SAKAJI, R.H. y ASANO, T. (1991). «Proposed California regulations for groundwater recharge with reclaimed municipal wastewater». *American Society of Civil Engineers Environmental Engineering Proceedings*, 759-764. Specialty Conference/EE Div/ASCE. New York, New York.
- LAZAROVA, V. and BAHRI, A. (eds.) (2006). *Water Reuse for Irrigation: agriculture, landscapes and turf grass*. CRC Press, Louisiana, USA.
- MAEDA, M.; NAKADA, K.; KAWAMOTO, K. y IKEDA, M. (1995). «Area-wide use of reclaimed water in Tokyo, Japan». *Proceedings of the Second International Symposium on Wastewater Reclamation and Reuse: Symposium Preprint Book 1*, 55-62, Octubre 17-20, 1995, Iraklio, Grecia.
- MAYOR, F. (1999). «Por una ética del agua». Correo de la UNESCO, febrero 1999.
- (2010). *Agua, fuente de vida*. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia.
- MET CALF & EDDY (1995): *Ingeniería de las aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización*. McGraw-Hill.
- MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA (2007). Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. BOE núm. 294.
- ODEBDAAL, P.E. y HATTINGH, W.H. (1988). «The status of potable reuse research in South Africa». *Proceedings of Water Reuse Symposium IV, Implementing Water Reuse*, 1339, AWWA Research Foundation, Denver, Colorado.
- OKUN, D.A. (1996). «A preference for nonpotable urban water reuse over drinking 'repurified wastewater'». *Journal of Environmental Engineering*.
- OMS-UNICEF (2000). Informe global de evaluación del suministro de agua y del saneamiento.
- ONU (2000). «Objetivos del Milenio». Resolución de la Asamblea General.
- (2005). «Objetivos del Milenio». Cumbre de las Naciones Unidas.

- SALGOT, M., (2008). «Panorama actual de la reutilización a nivel internacional. Seminario de Introducción a la reutilización de aguas depuradas y exposición de casos prácticos». Organizado ITC (proyecto Aquatlan II), Lanzarote, 17 y 18 Octubre de 2007.
- STATE OF CALIFORNIA (1990). «California Municipal Wastewater Reclamation in 1987». State Water Resources Control Board, Office of Water Recycling, June, Sacramento, California.
- UNESCO (2003). Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo («Executive Summary of the UN World Water Development Report»).
- (2006): II Informe de las Naciones Unidas, «El agua, una responsabilidad».
- UNIÓN EUROPEA (2005). *Directiva Marco del Agua*.
- WIKIPEDIA (2011). Voces «Tratamiento de aguas residuales» y «Reutilización de aguas residuales».

INTERVENCIONES

Prof.^a San Martín Bacaicoa

Felicito al conferenciante por traer a esta Academia un tema referente al agua de gran trascendencia y por su excelente presentación.

Aunque mi principal interés relacionado con el agua se refiere a la posible acción terapéutica de las aguas mineromedicinales, cualquier otro aspecto referente al agua, como los que hemos escuchado sobre reutilización del agua, tienen importancia tanto económica como social.

Me gustaría hacer dos reflexiones de carácter general. La primera, al hablar del agua, me parece obligado recordar, en este foro académico científico y defensor de una vida digna para la humanidad, que 1200 M de personas no tienen acceso al agua potable.

La otra reflexión se refiere a la consideración de que a pesar de su abundancia hay escasez de agua en el mundo. El agua es un bien común y escaso, es un recurso renovable pero agotable que es necesario proteger; si no lo cuidamos, ni lo protegemos, se puede agotar. La escasez de agua ha sido y sigue siendo preocupación de los gobiernos de todos los países del mundo y se busca la opinión de los expertos para dar solución al inadecuado manejo de los recursos hídricos mundiales. Para algunos hidrogeólogos los problemas de escasez del agua en el mundo podrían paliarse, en parte, con una adecuada y correcta utilización de las aguas subterráneas. Según Robert P. Ambroggi las reservas de agua dulce que tiene la Tierra exceden cualquier necesidad imaginable de la población humana.

De nuevo mi felicitación al Prof. González de Posada.

Prof. Guillermo Suárez Fernández

Deseo intervenir para felicitar al Prof. González de Posada en la exposición, muy brillante de un tema tan importante, desde siempre y para siempre, como es el uso del Agua.

Acabo de leer que un importante Premio Sueco «Stockholm Water Prize» ha sido concedido a Rita Colwell investigadora americana muy conocida en España por su importante contribución en el Área de la Salud a nivel internacional. Hemos observado que el Prof. González de Posada ha evitado profundizar en la problemática sanitaria cuando tenemos graves problemas en Europa debidos a contaminaciones de origen vegetal por una cepa de E. Coli entero hemorrágica con síndrome urémico.

Alabo su prudencia porque todavía es pronto para opinar seriamente sobre grados de culpabilidad en Alemania y Unión Europea, dado su gran interés sanitario.

Sin duda, el tema se traerá como comunicación académica a esta Institución.

Repito mi felicitación.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Muchas gracias en nombre de la Academia a los dos Académicos que han intervenido en el día de hoy y a todos los que han participado en la discusión, con aportaciones y con preguntas realmente interesantes. En la última conferencia, la de Francisco González de Posada, ha planteado un problema muy interesante en esta Academia y además yo lo celebro porque de alguna forma defiende de forma profunda su sillón, que es un sillón de arquitectura e ingeniería sanitaria que defendemos siempre que debe estar vigente en esta Academia. El problema del agua, a mí me estaba recordando cuando estaba hablando, del libro que publicó la Academia por una selección que hizo el Prof. Sánchez Granjel en el año 2010, que es un libro del siglo XVIII, que me parece que era anónimo, que se llamaba «La polémica del agua», donde ya ponía de manifiesto que ya se establecía por entonces una problemática que era motivo de discusión entre todos los sanitarios, tanto en relación con la toma de las aguas y los beneficios, como también con el tratamiento de las aguas. Por lo tanto creo que es realmente oportuno y hay una

vigencia siempre con el agua como él ha dicho, desde que el hombre existe. El problema de las aguas residuales es un problema muy profundo porque desgraciadamente sigue siendo un problema más sanitario, pero yo diría que no tanto por el tratamiento que se hace desde hospitales y desde lugares donde hay bastante seguridad, sino desgraciadamente son por la enorme cantidad de industrias que no cumplen las normas y acaban vertiendo a los ríos aguas que están contaminadas. Creo que ése es el auténtico problema y donde la Administración tiene un papel importante que cumplir, y de hecho lo cumple, pero a veces se escapa. Es sin duda un problema sanitario profundo y es un problema que yo no sé si se evitará en un futuro, como el Prof. González de Posada ha planteado, con las aguas regeneradas, que sería una alternativa a todo lo que ha venido existiendo hasta ahora, y cómo a partir de las aguas regeneradas se puede obtener seguramente mejores aguas por las filtraciones consecuentes de las diferentes capas de la Tierra. En cualquier caso el tema es muy interesante, el tema está abierto a que nos siga trayendo en un futuro nuevas aportaciones y desde el punto de vista sanitario no podemos por menos que felicitarnos que nos haya traído hoy este problema.

En cuanto a la conferencia del Prof. Casado, sin duda hay que felicitarle, primero porque pone encima de la mesa una gran cantidad de conocimientos específicos sobre la vitamina D. Ha puesto todo lo que ha vivido a lo largo de su vida, desde esas imágenes iniciales de los niños con raquitismo o los niños con hipoparatiroidismo, pseudoparatiroidismo, son absolutamente elocuentes de la relación que había de la medicina con la vitamina D en los años 50, años 60 y sobre todo los años de carencia en la alimentación verdaderamente importante. Ha puesto de manifiesto y ha traído un problema que ha despertado gran interés en todos los Académicos, es cómo la nueva medicina nos está poniendo de manifiesto que aquello que de alguna forma muy macroscópica veíamos con la vitamina D la podemos sustentar en algo, valga el simil, muy microscópica, y cómo hay alteraciones musculares o alteraciones cardiovasculares, neoplasias, etc. y además también desde el punto de vista inmunológico que están de alguna forma, podríamos decir preñadas, de problemas relacionados con la vitamina D. Creo que es realmente interesante, y estas aportaciones seguramente en un futuro van a hacer que conozcamos mejor estas enfermedades relacionadas que han sido motivo de debate además también por otros Sres. Acadé-

micos ,y seguramente la prevención, como él ha dicho, de una gran epidemia que afecta casi al 20 % de la población, y como el control de esa epidemia puede ofrecer mejores resultados de cara a algunas enfermedades que son menos frecuentes cuando hay una cobertura correcta en cuanto a vitamina D. No me queda sino felicitarle Prof. Casado y de nuevo Prof. González de Posada.

Se levanta la Sesión.

**SOLEMNE SESIÓN DE ENTREGA
DE TÍTULOS Y MEDALLAS
DE ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES**

DÍA 21 DE JUNIO DE 2011

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA

A LOS ILMOS. SRES.

- Dr. D. Eliseo Carrascal Marino (Honorario)
- Dr. D. Luis Santamaría Solís
- Dra. D.^a María Julia Araceli Buján Varela
- Dr. D. Agustín Albillos Martínez
- Dr. D. Alberto Ortiz Arduan
- Dr. D. Luis García-Sancho Téllez
- Dra. D.^a Marta Calatayud Pinuaga
- Dr. D. José Gutiérrez Fernández
- Dr. D. Jesús Antonio Sáez Crespo
- Dr. D. Juan Carlos Miangolarra Page
- Dr. D. Javier Sanz Serrulla
- Dr. D. Bernardo Perea Pérez

PALABRAS DE BIENVENIDA A LOS NUEVOS ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES

Por el Excmo. Sr. D. MANUEL ESCUDERO FERNÁNDEZ

Académico de Número

Excmo. Sr. Presidente.

Excmos. e Ilmos. Sres. y Sras. Académicos

Ilmos. Sres y Sras Académicos Correspondientes que hoy toman
posesión.

Sras. y Sres.

Se ha hecho costumbre, y es muy loable, realizar con solemnidad el acto de recepción de los nuevos Académicos Correspondientes.

Considero en primer lugar un alto honor el ocupar hoy esta tribuna para recibir en nombre de la Real Academia Nacional de Medicina a los doce nuevos académicos. Y lo digo por muchos y variados motivos, fundamentalmente por la confianza que me han otorgado el Presidente y la Junta Directiva y por la satisfacción de darles la bienvenida a esta gran institución como miembros de la misma.

Acceder a este sitio siempre impresiona, obliga y emociona. Se habla ante la élite de la ciencia médica y sus afines y tiene uno, al menos yo, la sensación de que no llega a transmitir la esencia de lo que quiere decir pues la meta sería la excelencia en la expresión y eso solo lo tienen algunos elegidos y en esta casa hay muchos, entre los que no me encuentro.

No voy a desarrollar en extenso los currículos de los nuevos académicos. Todos lo tienen excelente y han sido elegidos por sus méritos reconocidos según la normativa estatutaria por votación secreta en Junta de Gobierno. Daré una telegráfica pincelada de cada uno de ellos.

Del Prof. **Eliseo Carrascal Marino**, Catedrático de Histología y gran patólogo resalto su labor como maestro formando profesionales y docentes y su contribución investigadora en el estudio del Sistema nervioso central experimental sobre memoria y aprendizaje y el ser el pionero de la enseñanza de la Histología por Internet. Posee la mejor colección de microscopios de España que hemos tenido la ocasión de ver en la exposición hecha en esta Real Academia en enero y febrero de este año.

El Prof. **Luis Santamaría Solís** es Catedrático de Histología de la Universidad Autónoma de Madrid y ha realizado investigaciones sobre Histofisiología de neuropéptidos en tracto reproductor masculino, evaluación de la estructura e inmunohistoquímica de testículo, vías espermáticas y próstata, así como en modelos de carcinogénesis experimental en próstata.

La Prof.^a **María Julia Araceli Buján Varela** es Catedrática de Histología e Ingeniería tisular de la Universidad de Alcalá. En su trayectoria investigadora pertenece al grupo consolidado de Investigación Traslacional en Biomateriales e Ingeniería Tisular habiendo publicado numerosos trabajos que han merecido importantes reconocimientos a nivel nacional e internacional.

El Prof. **Agustín Albillos Martínez** es Catedrático de Medicina de la Universidad de Alcalá Miembro del servicio de Gastroenterología del Hospital Universitario Ramón y Cajal donde realiza su actividad asistencial e investigadora centrada en el estudio de la hipertensión portal y las complicaciones de la cirrosis. Ha participado recientemente en esta Academia en el día mundial de la Hepatitis con una ponencia que fue admirada por su contenido unánimemente.

El Dr. **Alberto Ortiz Arduán** es nefrólogo, profesor asociado de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y esta acreditado para catedrático. Su actividad investigadora ha tenido como objetivo principal comprender mejor la patogenia del daño renal para identificar nuevas dianas terapéuticas.

El Dr. **Luis García Sancho Téllez** es especialista en Cirugía general y del aparato digestivo, Profesor Honorario del Departamento de Cirugía de la Universidad Autónoma de Madrid y coordinador de la Unidad de Cirugía Esofagogastroduodenal del Hospital Universitario «Infanta Sofía».

La Dra. **Marta Calatayud Pinuaga** es especialista en Oftalmología, Académica Correspondiente de la Real Academia de Medicina de Zaragoza. Experta en trasplantes de córnea. Hemos tenido la ocasión

de escucharla recientemente en esta Academia donde dictó una conferencia muy bien expuesta, con gran contenido científico y demostración de su interesante experiencia.

El Prof. **José Gutiérrez Fernández** es Profesor Titular de Microbiología en la Universidad de Granada. Es Director del Grupo de Investigación CTS 521 de la Junta de Andalucía sobre «Investigación Traslacional en Microbiología Médica». Su línea de investigación se centra en el estudio de agentes infecciosos relacionados con procesos clínicos de causa desconocida.

El Dr. **Jesús Antonio Sáez Crespo** es Catedrático de Escuela Universitaria de Salud Pública. Presidente de la Asociación Española de Medicina e Higiene Escolar y Universitaria, así como Asesor de la Organización Mundial de la Salud.

El Prof. **Juan Carlos Miangolarra Page** es Profesor Titular de Medicina Física y Rehabilitación e investigador sobre discapacidad y medicina de rehabilitación de lo que tiene numerosas publicaciones.

El Prof. **Javier Sanz Serrulla** es Odontólogo, profesor de la Unidad de Historia de la Medicina de la Universidad Complutense, Director del Museo de la Facultad de Odontología. Socio fundador y Presidente de la Sociedad Española de Historia de la Odontología. Aparte de numerosos trabajos de investigación sobre el pasado de nuestra profesión es autor de 18 libros sobre historia de la Medicina y de la Odontología. Recientemente he tenido la ocasión de leer un libro suyo sobre antiguos hospitales de la provincia de Guadalajara en la que yo viví mi infancia y juventud que me ha interesado por su documentada contribución.

Por último, y he seguido el orden por secciones, el Prof. **Bernardo Perea Pérez** es Profesor Titular de Medicina Legal y Forense de la Universidad Complutense y actual Director de la Escuela de Medicina Legal. Dirige actualmente el grupo de investigación sobre «Responsabilidad profesional y seguridad del paciente».

Hace más de 20 años que soy miembro de esta casa, primero en 1991 como Académico Correspondiente por Premio de la Academia, desde 2004 como académico numerario y luego miembro de la Junta Directiva. Creo que puedo decir lo que es esta institución.

La Real Academia Nacional de Medicina en sus distintas nominaciones tiene cerca de 300 años de historia. Merecen un recuerdo de agradecimiento, su primer fundador en 1734 el Rey Felipe V cuyo retrato recién restaurado nos preside y la Reina Isabel II bajo cuyo

reinado se reorganizó como Real Academia Nacional de Medicina. Según los nuevos estatutos la denominación de la Real Academia es la de Real Academia Nacional de Medicina y tiene el Alto Patronazgo de S. M. el Rey, según el artículo 62 de la Constitución Española; es una corporación científica de derecho público, dotada de personalidad jurídica y capacidad de obrar integrada en el Instituto de España.

La Academia está, y así debe ser, en proceso de cambio. Hay que adaptar su concepción a los tiempos en que vivimos, al siglo XXI. Hay que revitalizarla como decía recientemente en una tercera de ABC el Prof. Jiménez de Parga haciéndose eco de unas declaraciones de nuestro presidente el Prof. Díaz Rubio. Estamos intentando el ser cada vez más conocidos en la sociedad y lo vamos consiguiendo introduciéndonos en los adelantos informáticos a través de las redes sociales como nuestra página Web, el Twitter o los nuevos videos YouTube. Ya tenemos informatizados los fondos bibliográficos.

Recientemente se han aprobado en Consejo de Ministros y se han publicado casualmente el día de hoy en el BOE, los nuevos estatutos por los que se va a regir la institución los cuales son más adecuados a la realidad actual, con una nueva estrategia tanto en las denominaciones como en los objetivos y funciones lo que comporta unos fines que han cambiado de forma sustancial lo hasta ahora vigente. En estos nuevos estatutos se contempla la capacidad de la Academia en el asesoramiento y la información, desde a S. M. El Rey hasta cualquier ciudadano pasando por todas las instituciones del Estado en todos los aspectos concernientes a la Medicina como ciencia, a la Salud, a la asistencia médica, a la prevención y rehabilitación de las enfermedades, a la discapacidad, a la investigación científico-médica, a la formación médica de grado y postgrado y a la actividad profesional.

Mención especial merece el fin de impulsar y desarrollar un Museo Español de la Medicina y contribuir a la preservación, mantenimiento y acrecentamiento del patrimonio documental e instrumental de la Ciencia Médica realizada en España. En ello estamos comprometidos y como muy bien saben está muy avanzado y es mucho más que un proyecto, ya es una realidad, el Museo Nacional de Medicina que lleva el nombre de «Infanta Margarita» quien nos ha honrado con la aceptación de dicha denominación. Pronto se pondrá en marcha como museo itinerante y esperamos tener en breve el edificio ideal para su sede definitiva.

Se contempla también el objetivo y fin de contribuir, fomentar, velar por el progreso, la investigación, la docencia y el mejor y mayor conocimiento de la ciencia médica, haciendo llegar a la sociedad en general, a través de los distintos medios de comunicación, información y opinión documentada y contrastada sobre cuestiones de índole médica y sanitaria que sean de conveniente difusión.

Otro de los fines de los nuevos estatutos se refiere a elaborar, actualizar y publicar con periodicidad un Diccionario de Términos Médicos así como vigilar y difundir el uso del correcto lenguaje médico. Como saben estamos finalizando, ya en proceso editorial, la primera edición del Diccionario que esperamos disponer de él antes del próximo otoño. Dispondremos con él las definiciones de más de 52.000 términos...

La Academia es pues un centro sólido, proclive a la apertura de todas las ideas constructivas para una sanidad social, científica y asistencial mejor, lo que es, ha sido y será la meta de todo médico desde Hipócrates y Galeno, pasando por todos los próceres de la medicina de todos los tiempos, hasta nuestros días.

Como yo decía hace unos días en el ciclo de «Química y Medicina», la Academia de Medicina tiene una visión universal. En ella hay además de médicos de distintas especialidades, sillones de Física, Química, Arquitectura, Veterinaria y Farmacia que hace que en sus conferencias y actividades se trasmitan un conjunto de saberes que nos enriquecen el conocimiento científico, con una notable diversidad de información de hechos de relevancia. Cada semana en las sesiones de los martes y ahora también los jueves disfrutamos escuchando a los distintos ponentes las puestas al día en sus conferencias con aportaciones actualizadas de las nuevas técnicas diagnósticas y terapéuticas (Cirugía robótica, diagnóstico por imagen, terapias moleculares, etc.). Con cada vez mas frecuencia se organizan con gran éxito ciclos sobre distintos aspectos médico quirúrgicos. En varios de estos ciclos, el de trasplantes, el de glaucoma y el de hepatitis han colaborado y hablado en debate libre, enfermos que nos han aportado una experiencia personal muy enriquecedora y muy acorde con la visión actual de la concepción de la asistencia médica con participación del enfermo.

En suma la Academia cumple o intenta cumplir con plenitud sus cometidos institucionales con crecido prestigio, está siempre abierta a aprender de la experiencia, de la innovación y de la investigación de vanguardia que lógicamente hacen más los miembros jóve-

nes. Vds. nuevos académicos son mayoritariamente de ellos, tienen una visión de futuro con más expectativas y por eso esperamos mucho de su colaboración en las tareas de esta casa. La experiencia de los académicos numerarios por ser mayores en saber y gobierno tiene el valor de expresar con rigor y sin ningún condicionamiento su sabio criterio.

En otro orden de cosas veréis que en la Academia impera el trato educado, exquisito y humano en la coincidencia y en la discrepancia, sin perder en ningún momento la compostura, la educación, la tolerancia y la amistad. Aquí no hay crispación nunca.

Por todo ello el pertenecer a esta institución como miembros de la misma es un inmenso honor al que llegaréis dentro de unos momentos Vais a pertenecer a una institución que lleva los calificativos de real y nacional con la mayor expresión de los conceptos.. Mi maestro el Prof. Botella decía que sus dos amores intelectuales habían sido la Universidad y la Academia, también lo han sido los míos y con ello emulo al maestro, que no me comparo. Como dice el Prof. Durán no sabría yo decir que me ha satisfecho más en mi intimidad anímica, si el haber sido catedrático o académico. De la cátedra me han jubilado, de la academia no y aquí estamos. Espero y deseo que vosotros os sintáis también muy orgullosos de vuestro nombramiento.

El ser académico es sin duda un premio a la labor y a una trayectoria que habéis demostrado tener y desarrollar en vuestra vida profesional, pero debo deciros que para ser un buen académico hay que tener ilusión de serlo, como la tenéis ahora en este momento y además adquirir y sentir el compromiso de por vida de aportar a la Academia y por tanto a la sociedad los conocimientos que vayáis adquiriendo con vuestro esfuerzo perseverancia y tesón en el trabajo.

Por último reitero que vais a recibir un gran honor y por ello os felicito en mi nombre y en el de la Real Academia Nacional de Medicina muy sinceramente. Os recuerdo una vez más vuestra obligación de cumplir vuestra misión como académicos.

ENHORABUENA A TODOS.

SED BIENVENIDOS A ESTA INSTITUCIÓN QUE SE HONRA EN RECIBIROS.

He dicho.

PALABRAS EN NOMBRE DE LOS NUEVOS ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES

Por el Ilmo. Sr. D. JAVIER SANZ SERRULLA

Académico Correspondiente

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia Nacional de Medicina.
Señoras y Señores:

Sin haber sido capaz a fecha de hoy de llegar a diagnosticar con exactitud mi presencia en este sitio como representante de mis compañeros, a quienes nos habéis hecho el honor de recibirnos en el seno de esta Casa, dejo a un lado el asunto en cuanto que es más urgente trasladaros nuestro agradecimiento, pendiente en su expresión pública desde el día 1 de marzo de este año de 2011 en que procedisteis a nuestra elección como Académicos correspondientes de la Real Academia Nacional de Medicina.

Sea nuestra primera palabra: «Gratitud.» No hay otra voz más redonda con la que podamos corresponderos: *Sentimiento que nos obliga a estimar el beneficio o favor que se nos ha hecho o ha querido hacer, y a corresponder a él de alguna manera.* Así reza nuestro Diccionario de la Lengua Española, repertorio para uso y disfrute de las palabras, las que traen y llevan nuestras emociones, tal que hoy; repertorio al que solo se accede previa aquilatación por ojo de diamantista y con pulso de filigranista, como si fuesen cada una de ellas a parar a su exacto lugar y no a otro en la pequeña caja de un reloj. Desde el asombro con el que viéramos a Pablo Neruda hacer su declaración de amor a las palabras al comienzo de su memorial *Confieso que he vivido*, elegimos nosotros al menos una, «Gratitud», que en su desdoble como estimatoria y correspondedora abarca al menos sintéticamente cuanto nos toca decir. «Todo está en la palabra» —sentenciaba al paso Neruda—. Todo nos cabe esta tarde en tan acendrada palabra.

Gratitud en tanto que sentimiento que nos obliga a estimar el beneficio o favor que nos habéis hecho. No puede ni debe ser de otra forma pues introdujisteis en la urna un papel que al dorso de nuestro nombre llevaba escrita la palabra «confianza». Tan cercana la fecha, nos resulta difícil reconoceros como compañeros cuando vemos todavía a los profesores de ayer, y a los maestros de hoy. Cier-

to que ese magisterio científico, de provecho en nuestro ejercicio cotidiano, nos es necesario como el agua, pero como el aire seguimos precisando de vuestras lecciones de diario humanismo que ahora percibimos más de cerca.

Somos conscientes de que ingresamos en esta Casa a crédito. A crédito de las rentas, las horas y los días restados a nuestras familias —en especial a aquellos padres que una tarde de otoño supieron que un hijo, una hija, se dedicaría a la atención del prójimo enfermo—, y restados también a nuestros amigos. Y a crédito entramos de los, todavía escasos, saberes que podemos aportar y que, sin duda, los tomamos prestados de nuestros maestros, a quienes siempre tendremos como referencia en nuestro humilde ejercicio de la medicina en cualquiera de sus especialidades. Es de ley proclamar hoy y aquí que sin ellos hubiéramos sido licenciados, después doctores, pero a su lado adquirimos la imprescindible y afortunada condición de médicos.

Somos conscientes del peso de la historia de esta Casa, máxime después de haberla cosido con su habitual destreza y magisterio el Excmo. Sr. Don Luis Sánchez Granjel, Académico de esta Real de Medicina, y dirigida a quien corresponda, para que se sepa quién, cuándo y cómo se ha obrado desde los tiempos de aquella tertulia de don José Ortega hasta el día de la fecha, camino de tres siglos de por medio.

Somos conscientes por activa de la ayuda y de la amabilidad del personal de esta Academia, especialmente en nuestros momentos de inicio. Ellos, y ellas, son quienes mantienen bíblicamente encendida la Casa mientras llega el amo, aunque también acuden a las carencias de los siervos, tales que nosotros, adelantándose a tantas dudas, resolviendo con tanta diligencia, despachando con tan vaticana diplomacia.

Somos conscientes de la actividad inusual que vive la Academia en los últimos tiempos y de su extensión como tribuna de referencia en los temas que son del interés de la Sociedad, no en vano la Real Academia Nacional de Medicina cumple un servicio público y así lo hace, no ya dando respuesta sino adelantándola, y para ello ha abierto sus puertas a la sociedad como jamás.

Tenemos conciencia, entonces, de tanto recibido y tan a tiempo —siempre luce el sol al cruzar esta puerta— y, por ello, del privilegio que pasamos a gozar con esta medalla que viene a descolgarse hasta el corazón para establecer una especie de ósmosis entre los

afectos y los deberes. En los deberes se sustancia esa correspondencia que forma parte del concepto y expresión de Gratitude.

*Mi querido don Ramón (Menéndez Pidal, Director de la RAH):
... Mi ausencia de la Academia es quizás el sacrificio que más
me cuesta, pero espero que, poco a poco, me irá restableciendo
y podré volver a sentarme entre ustedes... (etcétera.)*

Dictaba este párrafo el doctor Marañón un sábado, 26 de marzo de 1960. Un día después, a las siete y media de la tarde, ya no habitaba este mundo. Que hasta tal día de la fecha, Dios no lo quiera de otra manera, disfrutemos de un sentimiento semejante al del Maestro hacia nuestra Academia, hacia nuestros Académicos.

Excmo. Sr. Presidente, en cuya persona queda representada la Institución: Gracias. Quedamos, mediante compromiso público, a disposición de la Real Academia Nacional de Medicina.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Excmo. Sr. D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA

Como Presidente de la Real Academia Nacional de Medicina les dirigiré unas pequeñas palabras, adelantando que no aceptemos el compromiso que manifiestan de que quedan a disposición de la Academia, sino diciendo de una forma real que tienen el compromiso de asistir a las Sesiones de la Academia y a la vida Académica. Yo creo que esto es fundamental juntamente con la bienvenida en los momentos de emoción. En general uno es tremendamente generoso en sus manifestaciones o en su pensamiento en dichos momentos de emoción, pero luego viene la pequeña travesía del desierto que todos tenemos que hacer para comprender lo que es la Academia y para comprender lo que es la renuncia y el trabajo. En alguna ocasión cuando ha ingresado algún Académico en esta Casa he hecho ver el importante compromiso que se adquiere en un día como hoy, entendiendo que la Medalla, ser Académico en este caso Correspondiente no es un honor, que lo es también, sino es un compromiso que no puede estar separado del honor, y que el incumplimiento de lo que a uno se compromete realmente le mancha su curriculum vitae, le mancha su trayectoria vital. Por la tanto ese compromiso que hoy todos vosotros habéis aceptado libremente, porque debemos de recordar que en esta convocatoria de Académicos Correspondiente fue una convocatoria publicada en el Boletín Oficial del Estado donde todos ustedes, de una forma voluntaria, han acudido con el deseo de pertenecer a la Real Academia Nacional de Medicina.

Alguno de ustedes, no es la primera vez que se han presentado a ser Académico Correspondiente y a obtener la confianza de todos los Académicos Numerarios, lo cual les engrandece más porque la perseverancia de sus deseos de conseguir tal meta les hace todavía mucho más sublime en la humildad que supone llegar a ocupar una plaza en esta Real Academia. Independientemente de ello hay hoy un Académico Correspondiente Honorario, yo creo que tiene una significación especial el Académico Correspondiente Honorario, que es aquella persona que se ha distinguido por unos méritos excepcionales y que sin concurrir a un concurso público que aparece en el Boletín Oficial del Estado, la Junta de Gobierno considera que es una persona que se debe de aprovechar la Academia de sus conocien-

tos e incluirla en la nómica de los Señores Académicos. Son al final funciones, las que desempeñamos todos los Académicos muy similares. Los Académicos no somos especialistas de nada aunque algunos sillones tienen una denominación, incluso algunos Académicos Correspondientes tienen una especialidad pero la grandeza de la Academia es que somos todos iguales, somos como una tupida red con sus nudos, y cada uno de sus nudos somos uno de nosotros y que la complementariedad y la multidisciplinariedad de todos nosotros nos hace comprender mejor lo que es la Medicina, lo que es mejor nuestra ciencia y lo que es mejor la salud, la enfermedad y de nuestras ciencias médicas así como la sanidad. Creo que esta tupida red no se puede entender si uno no vive la Academia. Cuando un Académico viene un día a la Academia, un día vamos a llamarlo «suelto», de una especialidad determinada, escucha a un compañero bien de Número o Correspondiente hacer una reflexión sobre un tema que se separa mucho de sus conocimientos, y uno dice «yo aquí no pinto nada». Creo que este es el gran error, y el gran error está, primero no tratar de descubrir lo que aquí se encierra y aquí se encierra un debate que tiene 277 años de vida. Ustedes saben o pueden saber que las Academias nacieron el siglo XVII, concretamente la primera fue una Academia italiana, la Academia de Lincei, que fue puesta en marcha por una persona tan solo con dieciocho años en 1603, que era Federico Cesi, que tuvo la genial idea de decir que los científicos, los que vivimos el mundo de la ciencia, no solamente queremos transmitir, no solamente queremos debatir, sino queremos que quede reflejado en un escrito lo que decimos. Luego viene el periodo de reflexión y a partir del periodo de reflexión todos salimos ganando. Esta Academia de Lincei, que quiere decir de los linceos, este fue el nombre que se le puso y en su anagrama, esta Academia que está en Roma y que sigue existiendo aunque ha sufrido algunas mutaciones a lo largo de los años de los siglos, tiene un linceo y tiene además un águila, y tiene su significación porque lo que trata de transmitir es la agudeza de la observación y de la reflexión. Esto no lo podemos conseguir solos, esto lo tenemos que conseguir entre todos y la Academia ofrece a aquel que quiera trabajar el conseguir estas metas que son tan importantes, por lo tanto no es tanto ser Académico como sentirse Académico. Ser Académico todos ustedes lo son, como lo somos todos los que estamos en esta Casa, pero sentirse Académico es algo superior que no se adquiere porque a uno se le ponga una Medalla sino que uno va fraguando en el tiempo y uno va compren-

diendo lo que está aportando y lo que está recibiendo, por lo tanto yo les invito a todos ustedes a que hagan el mayor de sus esfuerzos para sentirse auténticamente Académicos. Disfrutarán ustedes de ello y además sentirán que han cumplido con este compromiso que de alguna forma hoy hacen ante todos nosotros.

Federico Cesi decía que tenemos que observar las cosas pequeñas para poder comprender las cosas mayores. Creo que en una sociedad donde todo es hacer y nada es pensar o muy poco es pensar, ustedes van a encontrar aquí un lugar donde el pensamiento tiene una preponderancia verdaderamente espectacular. Alguna vez he dicho que Federico II El Grande que fue un gran defensor de las Academias decía que conocimientos puede tenerlos cualquiera, pero el regalo de pensar o la condición de pensar es el regalo más importante que nos ha dado la naturaleza. Por lo tanto no abandonen la idea, obviamente teniendo los conocimientos, de profundizar en el pensamiento y profundizar en la reflexión. Insisto en que ser Académico Correspondiente es tremendamente importante, alguno incluso se preguntará «¿qué quiere decir Académico Correspondiente, qué diferencia hay con Académico Numerario?» quizá ahí, tendríamos que remontarnos a la propia historia de las Academias y al significado que cada uno de ellos tenía, aunque hoy día ha cambiado y hoy día en esta tupida red todos tenemos cabida prácticamente al mismo nivel, con independencia de que los Académicos de Número tienen reservado un sillón con su número correspondiente. Los Académicos de Número son los que generaban el debate de una forma intensa y de una forma cotidiana, había Academias, incluso esta Academia también a primeros de siglo tenía hasta cinco Sesiones a la semana, incluso los sábados venían los Académicos aquí y en el origen de las Academias había Sesiones incluso por la mañana y por la tarde. Los Académicos de Número tienen determinadas obligaciones pero los Académicos Correspondientes o Corresponsales como inicialmente, históricamente se llamaban, tenían una función fundamental: los Académicos Corresponsales como se llamaban estaban totalmente diferenciados en el mapa los que estaban en un lugar y en otro, y la misión que tenían era divulgar el trabajo que se producía en la Academia. Piensen ustedes que en el siglo XVII y XVIII que es cuando realmente la relación epistolar que había entre el mundo científico obtuvo su máxima expansión, seguramente también en el XIX, tal relación no tenía otro objeto que transmitir aquello que se iba sabiendo, que se iba aportando y se transmitía desde las

Academias. Por tanto se comunicaba a los Académicos Corresponsales y los Académicos Corresponsales divulgaban la labor que se hacía en esa Academia. Es verdad que el tiempo todo esto lo ha modificado y de alguna forma hoy los Académicos Correspondientes se sienten integrados y se sienten en el fondo tan Académicos numerarios como pudiera ser en función de su pensamiento. El Prof. Escudero en su magnífica bienvenida que les ha dado a todos ustedes ha hecho algunas reflexiones sobre ello y ha hecho una reflexión personal prácticamente en dos líneas sobre su propia trayectoria dentro de la Academia, que creo es digna de admiración y digna de imitación. El Prof. Escudero como él ha dicho lleva veinte años en la Academia. Ha sido Académico Correspondiente durante trece o catorce años, luego fue Académico Numerario y actualmente es miembro de la Junta Directiva. Era Académico de tal magnitud que cuando se presentó a la plaza de Académico Numerario, recuerdo que un Académico «mayor» creía que el Prof. Escudero era Académico de Número porque era un ejemplo viviente del cumplimiento de un Académico. Por lo tanto creo que lo que él ha dicho es un ejemplo y una reflexión que ustedes tienen que hacer cuando tengan por escrito todo lo que aquí se ha dicho hoy. De la misma forma nuestra gratitud al Prof. Sanz Serrulla por sus palabras, sus palabras de gratitud a todos los Académicos que en un momento como él dijo votaron y en esa papeleta había mucho contenido. Y es verdad, no solamente está el nombre de una persona, sino está la confianza que se deposita en esa persona y en una votación con un sistema de votación que aunque pueda ser criticado es seguramente el más limpio porque es el que reposa sobre nuestras conciencias, que es el sistema de cooptación. Por tanto deben ustedes de alguna forma devolver ese compromiso moral que puso un Académico en su voto para que ustedes hoy puedan tomar posesión y trabajar por y para la Academia. Muchísimas gracias, bienvenidos a la Real Academia, felicitaciones a las familias de los que han entrado en el día de hoy, a la vez que les deseamos larga vida y disfrute en esta Real Academia.

Se levanta la Sesión.

XVII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 4 DE OCTUBRE DE 2011

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. MANUEL DÍAZ-RUBIO GARCÍA

**NUEVA CIRUGÍA DE LAS ANOMALÍAS RENALES
COMPLICADAS**

***NEW SURGERY FOR COMPLICATED RENAL
ANOMALIES***

Por el Excmo. Sr. D. JOSÉ MARÍA GIL-VERNET VILA

Académico de Número

**MORFOGÉNESIS Y ANATOMÍA CLÍNICA DE LAS
FISURAS PETROTIMPÁNICA Y PETROESCAMOSA**

***MORPHOGENESIS AND CLINICAL ANATOMY
OF THE PETROTYMPANIC AND PETROSQUAMOSAL
FISSURE***

Por el Ilmo. Sr. D. JOSÉ F. RODRÍGUEZ VÁZQUEZ

Académico Correspondiente

NUEVA CIRUGÍA DE LAS ANOMALÍAS RENALES COMPLICADAS

NEW SURGERY FOR COMPLICATED RENAL ANOMALIES

Por el Excmo. Sr. D. JOSÉ MARÍA GIL-VERNET VILA

Académico de Número

Resumen

Hemos extendido las indicaciones de la cirugía «ex vivo» y el autotrasplante a las anomalías renales complicadas, en particular en el riñón en herradura y en la malrotación. Esta actitud se justifica porque las técnicas convencionales no corrigen las múltiples causas responsables de las complicaciones. Estas malformaciones requieren una estrategia quirúrgica que trate simultáneamente la patología propia de la anomalía renal y la de su vía excretora. Significa que deben rectificar la anormal orientación y posición renal, permitir la amplia resección de la vía excretora displásica o distrófica, conseguir un normal drenaje urinario y conservando todo el parénquima renal. Esto se ha logrado en trece de los 14 casos operados que corresponden a diferentes tipos de anomalías complicadas. Los excelentes resultados demuestran que esta nueva e innovadora cirugía ha resuelto la compleja y difícil problemática de las malformaciones renales. Se presenta la metódica quirúrgica y los resultados a largo plazo en el adulto y en el niño, primeros en la bibliografía mundial.

Abstract

The indications for «ex vivo» surgery and autotransplantation have been broadened to complicated renal anomalies; particularly in the cases of the horseshoe kidney and kidney malrotation. This position is justified as conventional techniques do not correct the multiple causes that are responsible for these complications. These complications require a surgical strategy that simultaneously deals with the pathology of the renal anomaly itself and that

of its excretory tract. The aforementioned means that the abnormal kidney orientation and position must be rectified to permit a large resectioning of the dysplastic or dystrophic excretory conduct in order to achieve normal urinary drainage while conserving all the renal parenchyma. It has been achieved in thirteen out of the 14 cases operated on that correspond to distinct types of complicated anomalies.

The excellent results demonstrate that this new and innovative surgery has resolved the complex and difficult issue of kidney malformations. The surgical method and long-term results in the adult and child, the first in the literature, are presented here.

INTRODUCCIÓN

Bajo la denominación de anomalías renales, debe entenderse las diversas malformaciones y posiciones anormales del riñón, la de sus vasos y la de su vía excretora, a cuyo nivel se manifiestan las complicaciones.

De toda la economía humana, el riñón es el órgano que presenta el mayor número de anomalías. Son pocas las malformaciones del aparato genito-urinario que cursan con normalidad funcional, la mayoría son causa de disfunción y esto último es particularmente cierto en el caso de las anomalías renales, sean de posición, de rotación y sobre todo en las de sínfisis, ya que corrientemente van asociadas a malformaciones de la vía excretora alta y son la causa de hidronefrosis, pielonefritis y de litiasis de órgano. Las complicaciones patológicas son más frecuentes y más graves en el riñón malformado que en el riñón normal (1). Toda anomalía congénita del riñón es una entidad patológica en potencia (2).

Por su anormal posición tienen una patología propia, singularmente el riñón en herradura, derivada de sus relaciones topográficas y en el que el dolor es el elemento clínico dominante del que es responsable el istmo prevertebral, es el llamado riñón en herradura no patológico pero doloroso (3) y tributario de la cirugía (sinfisiotomía). Pero son las malformaciones de la vía excretora las que imponen la actitud quirúrgica en la gran mayoría de los casos, en las que la cirugía clásica no resuelve el problema originado por la rotación incompleta del riñón o por las lesiones estructurales del uréter proximal. la situación ventral de la pelvis y los uréteres pasando por delante del istmo crea condiciones desfavorables al vaciamiento de la pelvis; al estar el conducto sometido a la presión intra-abdominal influye en el peristaltismo ureteral y es la misma presión,

al obrar sobre el uréter, la que determina la formación de un espolón en su embocadura al que hay que imputar, en los casos de inserción alta del uréter, la retención piélica.

El riñón en herradura aparece en 1 de cada 400 nacimientos; la forma más común es la de fusión renal por los polos inferiores. La mala rotación renal tiene una incidencia de un caso entre 390 individuos; tiene una configuración discoide y su pelvis en la cara anterior y el uréter, cabalgando sobre su borde parenquimatoso, están sometidos a la presión abdominal; igual patología en la ectopia pelviana, que se da en 1 de cada 900 individuos.

EVOLUCIÓN HISTÓRICA

Marion (4), en 1943, aconsejaba la extracción de todo riñón dis-tópico por temor a sus complicaciones. Pero una década después cambió la actitud de los urólogos, mostrándose más tolerantes al considerar que es posible tratar sus complicaciones con las mismas técnicas que se utilizan en el riñón no malformado. Proceder erróneo, por cuanto está demostrado que las técnicas convencionales para el tratamiento de las hidronefrosis y la litiasis no son válidas o aplicables en las anomalías renales, ya que no corrigen los diversos factores etiopatogénicos responsables de las complicaciones, y esto explica los malos resultados. En las estadísticas, las nefrectomías superan ampliamente a la cirugía conservadora, por ser ésta inoperante.

Diversos capítulos de la Urología se han beneficiado de los progresos alcanzados por la cirugía del trasplante renal (5), con la consecución de eficaces métodos de hipotermia que consiguen la conservación del riñón durante algo más de 24 horas. Esto nos permitió el desarrollo del autotrasplante (6) y posteriormente la cirugía renal «ex vivo» o cirugía de banco (7). La fiabilidad de estos métodos, demostrada a través de los resultados lejanos de importantes estadísticas por indicaciones muy diversas, nos impulsó a utilizar por vez primera en la bibliografía mundial (8) estos recursos en las anomalías renales complicadas en donde la cirugía convencional había fracasado o resultaba inoperante.

Aunque la casuística es lógicamente limitada, los resultados inmediatos y lejanos conseguidos y objetivables a través del resultado urográfico de cada uno de los casos, con esta nueva estrategia, son

suficientemente demostrativos como para justificar la revisión de la problemática quirúrgica de tales malformaciones.

PACIENTES Y MÉTODOS

Desde el 9 de febrero de 1972 hasta agosto de 2002 en el Hospital Clínico Universitario de Barcelona, a catorce enfermos que presentaban anomalías renales complicadas procedí a la nefrectomía transitoria seguida de cirugía de banco y autotrasplante. La edad de los pacientes está comprendida entre los 10 y 59 años. Ocho presentaban un riñón en herradura (Fig. 1A), cinco malrotación renal (Fig. 1B) y uno, riñón en ectopia cruzada (Fig. 1C). Once de ellos habían sido reiteradamente intervenidos sin éxito. Las indicaciones de esta cirugía se justificaban por el evidente fracaso de las técnicas convencionales y en algunos no había aparentemente otra posibilidad que la nefrectomía. De tres casos que no habían sido previamente operados, uno corresponde a un paciente de 22 años con una gran hidronefrosis en riñón en ectopia cruzada con extensa obstrucción ureteral, en el que, por su edad, se procedió a la cirugía conservadora, pero que debió ser de principio, a la vista de las lesiones, nefrectomía. En dos casos el riñón contralateral era anormal o patológico. Es sabido que en pacientes jóvenes, sobre todo si se trata de un niño, las lesiones asociadas a una malformación renal son tanto más graves cuanto más joven es el niño, lo que exige una pronta solución. Es el caso de un niño de 10 años con un riñón en herradura, pro-

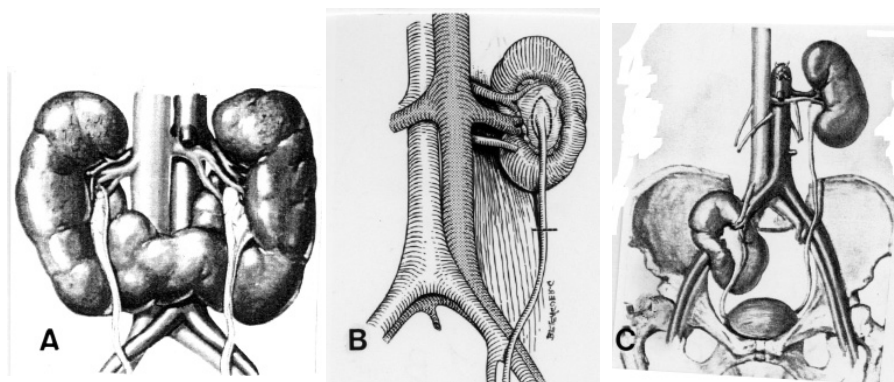


FIG. 1. **A**, riñón en herradura. **B**, riñón mal rotado. **C**, riñón ectópico (de F. Netter).

teinuria e hidronefrosis bilateral anteriormente operado de pielouretoplastia de un lado sin éxito; se procedió al autotrasplante de los dos riñones en tiempos sucesivos. Fue el primer trasplante de un riñón en herradura «in toto», en la historia de la Cirugía y por supuesto de la Urología.

En todos los casos de la estadística, la indicación de esta cirugía se justifica por la necesidad de corregir la situación ventral de la pelvis, la inserción alta y la angulación de la unión pieloureteral, y la resección de las lesiones displásicas del uréter responsables de la uropatía obstructiva. El objetivo fue proporcionar al riñón una normal orientación anatómica y evitar que el istmo presione permanentemente las estructuras vasculo-nerviosas prevertebrales responsable de la patología dolorosa. Todos estos objetivos se consiguen con el autotrasplante (Fig. 2), ya que permite la amplia escisión de los tejidos y la obtención de un normal drenaje urinario al rectificar la anómala orientación y posición del riñón. En todos se procedió a la urografía intravenosa (UIV), de rutina y cistouretrografías para descartar un reflujo ureteral primario y a la angiografía renal.

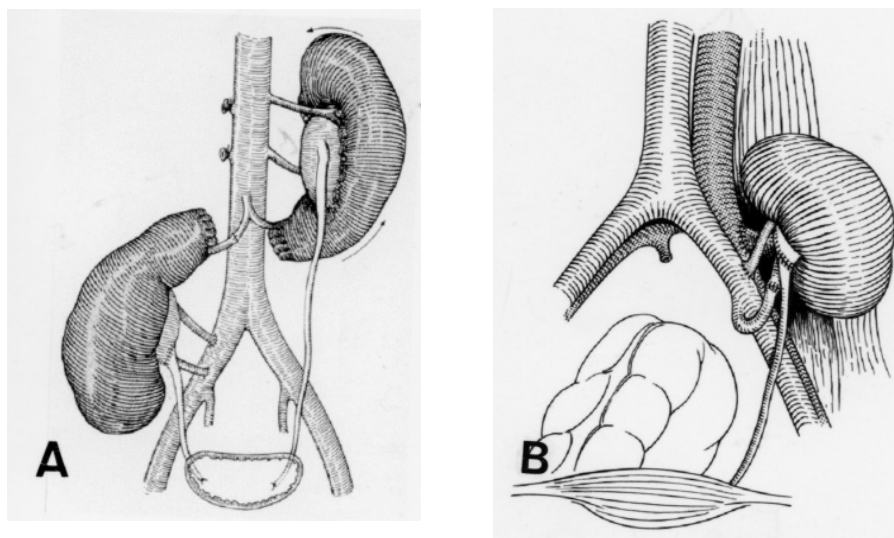


FIG. 2. **A**, Autotrasplante del hemirriñón en herradura. **B**, autotrasplante del riñón mal rotado.

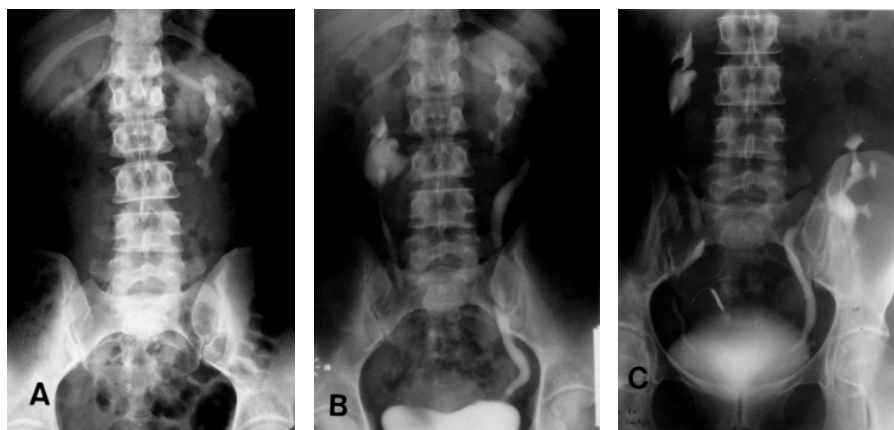


FIG. 3. (Ob. 1). **A**, Radiografía simple. Litiasis coraliforme recurrente en riñón en herradura. **B**, UIV preoperatoria. **C**, UIV postoperatoria. Extracción completa del cálculo, autotrasplante del riñón izquierdo.

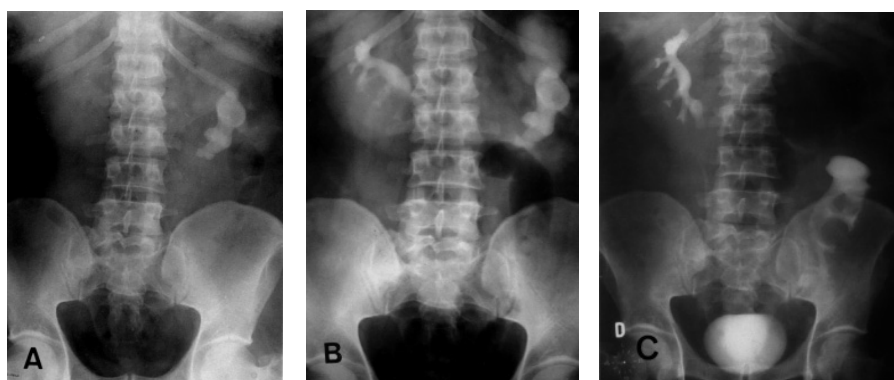


FIG. 4. (Ob. 2). **A**, Radiografía simple litiasis coraliforme recurrente en riñón en herradura. **B**, Notable déficit funcional del hemirriñón izquierdo con UIV preoperatoria. **C**, UIV postoperatoria. Extracción completa del cálculo y autotrasplante. Recuperación funcional del riñón.

OPERACIÓN

Las vías de acceso utilizadas fueron: la incisión paramediana retroperitoneal para la heminefrectomía y autotrasplante del riñón en herradura. La malrotación requirió una incisión lumbar clásica para la exéresis renal seguida de una incisión paramediana extraperitoneal para su reimplantación. En el riñón en herradura después de la di-

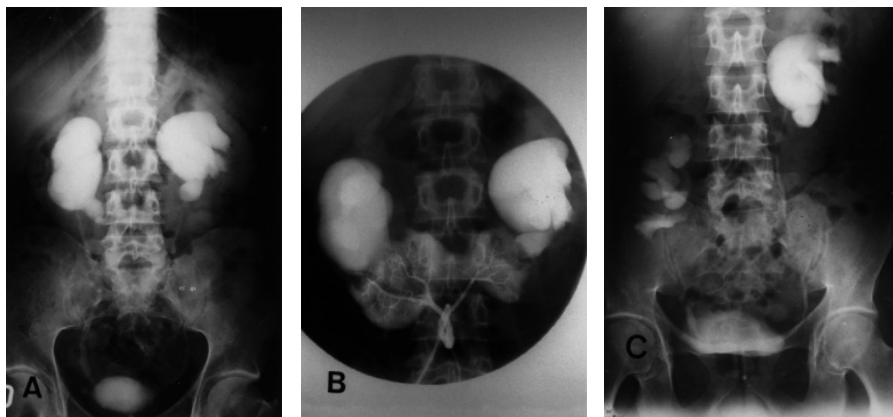


FIG. 5. (Ob. 3). **A**, UIV preoperatoria hidronefrosis bilateral recurrente y sintomatología dolorosa en riñón en herradura. **B**, Arteriografía selectiva de la arteria ístmica. **C**, UIV autotrasplante riñón derecho.

visión de la sínfisis, el polo inferior del hemirriñón opuesto es desplazado hacia la fosa lumbar correspondiente, manteniéndole en esta posición mediante sutura de las dos hojas de la fascia de la celda renal al psoas o a la aventicia de la aorta. De esta forma los grandes vasos, los plexos nerviosos y los vasos linfáticos quedan liberados de la compresión del istmo de fusión y su uréter ya no cabalgará sobre el istmo.

Después de ser extraído el riñón se trasladó a un banco de trabajo para situarlo en hipotermia constante y para repararlo. Se coloca dentro de una vasija donde se perfunde por una sola vez con 500 ml. de Eurocollins a 4°. El riñón permanece en esta vasija bañado por la misma solución y la temperatura del baño 7-9° C) se mantiene añadiendo hielo y se controla con un simple termómetro de mercurio. Durante toda la operación extracorpórea (macro o microquirúrgica) el riñón debe estar en inmersión constante; mientras, se procede a la resección amplia de la unión pieloureteral y del uréter lumbar, o la extracción de cálculos. En los coraliformes se utiliza la radiografía tridimensional que dimos a conocer en 1981 (9), el amplificador de imágenes y la vía intrasinusal extracapsular que describimos en 1965 (10), lo que permitió la extracción completa de los cálculos sin nefrotomía. En las hidronefrosis y en los casos que habían sido anteriormente intervenidos el tiempo más importante es la preparación de la futura boca anastomótica que debe recaer en tejido sano; lejos de antiguas lesiones cicatriciales y en un lugar

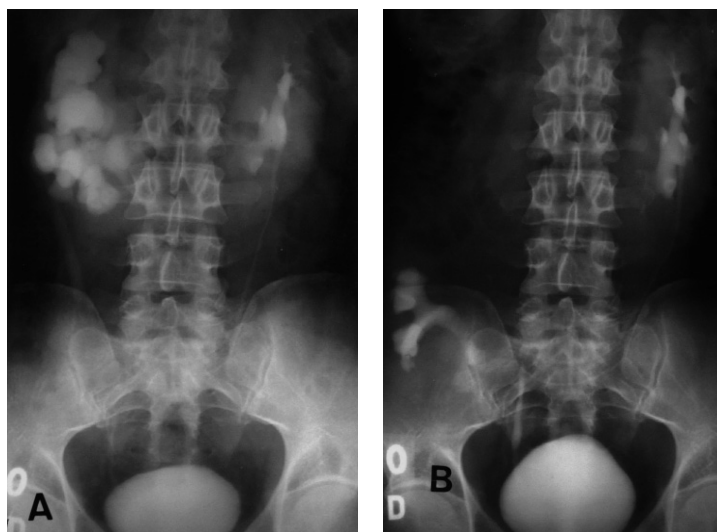


FIG. 6. (Ob. 4). **A**, UIV preoperatoria riñón en herradura con gran hidronefrosis del riñón derecho. **B**, UIV postoperatoria. Nefrectomía parcial y autotrasplante de la mitad de este riñón.

declive de la pelvis. También en el banco de trabajo se preparan los vasos para facilitar la reimplantación. En los casos de más de una vena se ligaron las más pequeñas o se anastomosaron entre sí utilizando técnicas microquirúrgicas con el microscopio operatorio. En el riñón anómalo los problemas técnicos que plantean las arterias no es por su número, sino por su cortedad, lo que en algún caso obligó a obtenerlas con su ostium órtico; además, están muy distantes entre sí debido a que en las malformaciones renales el hilio es más largo de lo normal.

En esta cirugía, el riñón de herradura, y desde el punto de vista vascular, tiene una personalidad propia representada por la arteria del istmo que frecuentemente irriga un tercio de cada hemirriñón y, por lo tanto, no debe ser ligada. En todos los casos ha sido respetada y utilizada en la revascularización. En la reimplantación del hemirriñón que presenta la arteria ístmica se sitúa sistemáticamente en posición invertida, para restablecer la continuidad de la arteria ístmica mediante anastomosis término-terminal microquirúrgica de sus propios bordes, la arteria renal superior y la arteria media en término-lateral con la ílfaca primitiva. La arteria ístmica fue observada en tres de los ocho casos de riñón en herradura. Cuando el

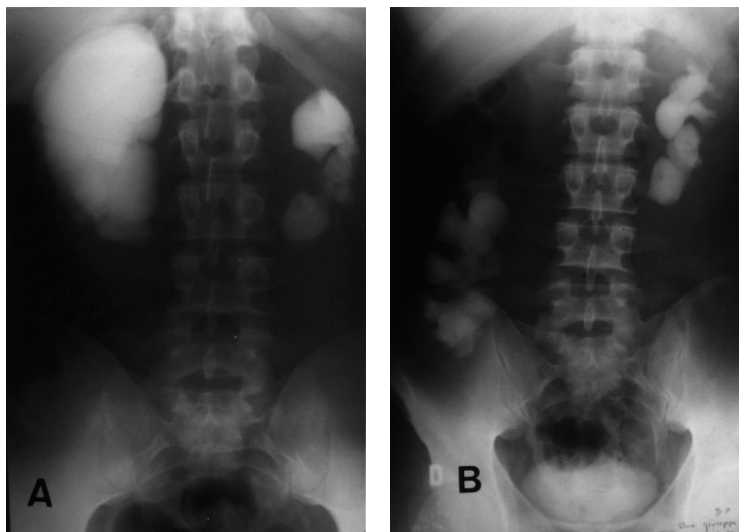


FIG. 7. (Ob. 5) **A**, UIV preoperatoria gran hidronefrosis derecha recurrente en riñón en herradura. **B**, autotrasplante riñón derecho y mejoría de la vía excretora del riñón izquierdo.

riñón tenía dos o tres arterias de parecido calibre se anastomosaron separadamente a la íliaca primitiva y la tercera con la íliaca interna. La hipotermia renal por refrigeración externa se mantiene durante las anastomosis vasculares, lo que se logra situando entre el riñón y el paciente una «colchoneta» de hielo granizado y regando la cara anterior del riñón con suero fisiológico a 4° C. Con ello se evita la normoternia operatoria, o sea, el recalentamiento prematuro del órgano con lo que el cirujano, cómodamente sentado, dispone de tiempo ilimitado para confeccionar las múltiples anastomosis vasculares sin prisas y, por lo tanto, con mayor perfección y seguridad.

Este sencillo método de hipotermia «in situ» no estorba al cirujano y protege eficazmente al riñón durante el tiempo de las anastomosis vasculares. Esto es particularmente importante debido a que el riñón patológico es más sensible a la anoxia que un riñón normal, como en el caso del homotrasplante renal.

El riñón autotrasplantado queda en posición ilíaca o lumbar baja, según la técnica del alotrasplante renal heterotópico que describimos en 1967 (5), de manera que la vena o las venas renales se anastomosan sistemáticamente a la vena íliaca primitiva en el lado izquierdo o a la vena cava en el lado derecho, lo que proporciona al órga-

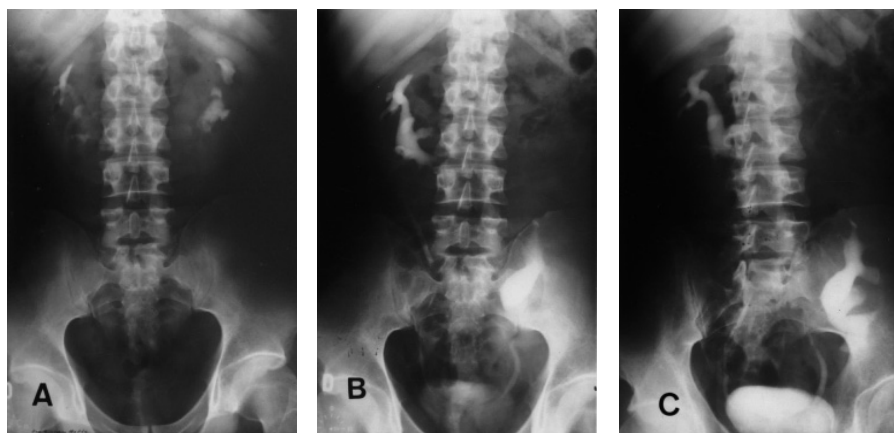


FIG. 8. (Ob. 6). **A**, UIV preoperatoria, riñón en herradura sin patología de la vía excretora pero doloroso, en el que había fracasado la sinfisiotomía previa. **B**, UIV oblicua, post-autotrasplante riñón izquierdo. Desaparición de la sintomatología dolorosa y de los trastornos digestivos. **C**, Mejora funcional de ambos riñones.

no trasplantado mejores condiciones hemodinámicas que la anastomosis a la vena ilíaca externa; una posición más estable para el riñón y éste queda más protegido. La continuidad urinaria se restablece anastomosando el cistoide del uréter ilíaco a la pelvis renal. En el caso de mala rotación, el riñón se autotrasplanta en posición lumbo-ilíaca proporcionándole una rotación de 90° de manera que su cara anterior o ventral donde se halla la pelvis y el uréter queda en posición dorsal anatómica.

RESULTADOS

No hubo mortalidad inmediata ni lejana en el total de la estadística; el riñón en ectopia contralateral y gran hidronefrosis por extensa estenosis ureteral, tuvo que extraerse a los 21 días por pionefrosis (tabla I). En todos los demás casos no hubo complicaciones inmediatas o lejanas. El tiempo operatorio promedio fue de 4 horas 30 minutos. La función renal ha mejorado en todos los casos. La infección urinaria ha desaparecido. Ninguna recidiva litiásica en el transcurso de estos años, notable mejora de la ectasia pielocalicial en las hidronefrosis y desaparición del dolor lumbar y de los trastornos gastrointestinales.

TABLA I
Anomalías renales (2002)

<i>Tipo anomalía renal</i>	<i>N.º casos</i>	<i>Resultados</i>	<i>Complicaciones*</i>	<i>Tiempo evolución</i>
Sínfisis (riñón en herradura)	8	Bueno en todos los casos	0	26 años 25 años 25 años 21 años 20 años 18 años 17 años 10 años
Malrotación	5	Bueno en todos los casos	0	23 años 19 años 19 años 16 años 10 años
Ectopia	1	Nefrectomía	Pionefrosis	21 días

* No mortalidad.

Se presentan los resultados radiográficos obtenidos en última revisión y que pueden catalogarse como muy satisfactorios. El tiempo de evolución es el máximo de 25 años y el mínimo de 6 años.

Como resultado de esta nueva táctica se ha conseguido:

- Que el órgano recupere su normal orientación anatómica.
- Que la pelvis quede, en la mayoría de los casos, en posición dorsal anatómica y fisiológica.
- Eliminar el extenso segmento pieloureteral displásico o distrófico.
- Un drenaje urinario más corto y declive.
- que el uréter no cabalgue sobre el istmo o sobre el reborde parenquimatoso en la malrotación.
- Eliminar el istmo de fusión responsable de los trastornos dolorosos o gastrointestinales relacionados con el riñón en herradura.
- Conservar la totalidad del parénquima renal preservando su función.

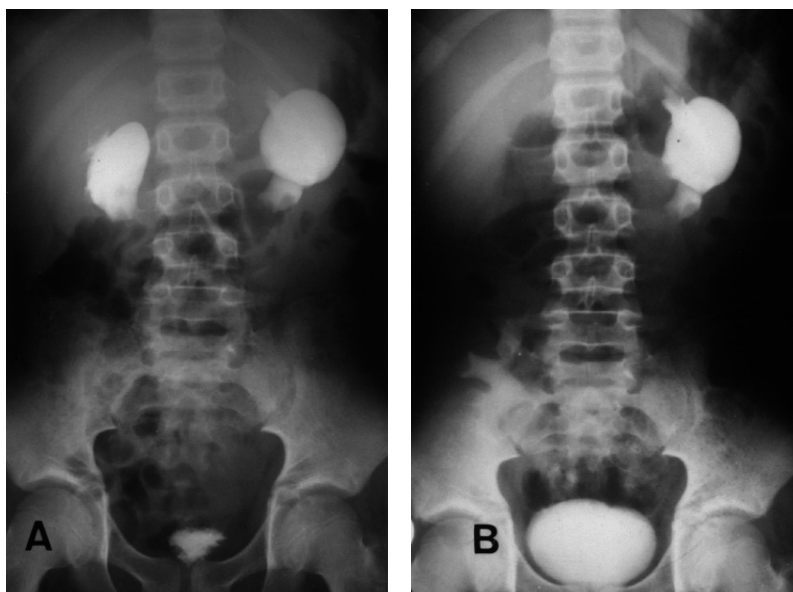


FIG. 9. (Ob. 7). **A**, UIV preoperatoria de un niño de 10 años. Hidronefrosis bilateral y ureteropieloplastia convencional fracasada infección urinaria, patología dolorosa y proteinuria. **B**, Autotrasplante renal derecho.

- Después de la sinfisiotomía, el riñón contralateral ya no presiona sobre las estructuras prevertebrales y su uréter no cabalga sobre el istmo y tiene un mejor drenaje urinario.

En conclusión: se ha corregido la anomalía renal y las lesiones asociadas responsables de las complicaciones.

DISCUSIÓN

Las anomalías renales complicadas no han sido tratadas hasta ahora de una forma lógica, en parte por desconocimiento de los factores etiopatogénicos y en parte por carencia de soluciones quirúrgicas a una problemática tan compleja. La cirugía convencional no trata correctamente las lesiones asociadas ni a la anomalía en sí, ya que no tiene en cuenta las múltiples malformaciones responsables de las complicaciones. Así, la situación alta y ventral de la pelvis, el curso del uréter cabalgando sobre el istmo en el riñón en herradura o sobre el reborde parenquimatoso en las anomalías de rotación,

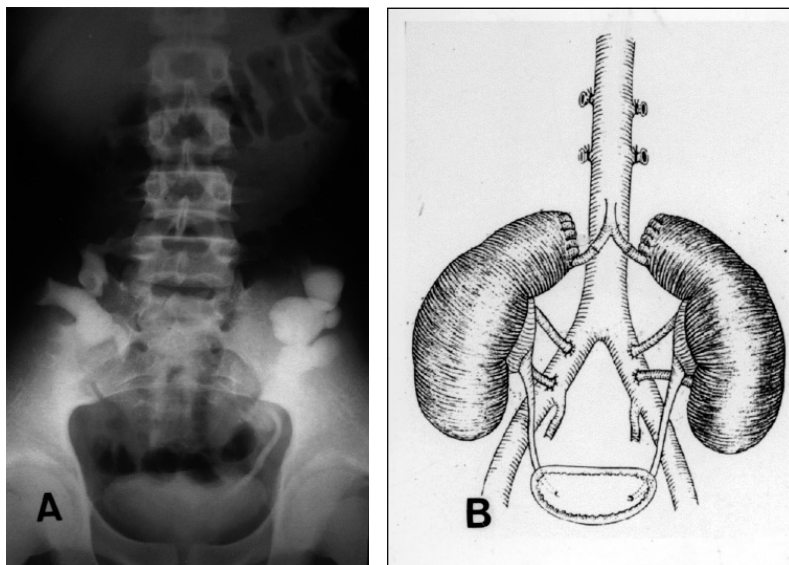


FIG. 10. (Ob. 7). **A**, UIV. Corresponde al mismo niño de 10 años con riñón en herradura complicado por hidronefrosis bilateral a quien se le autotrasplantó primero el riñón derecho y dos meses después se autotrasplantó el riñón izquierdo. Ambos riñones tienen una función normal, y el dolor, la infección urinaria y proteinuria han desaparecido. **B**, Esquema del autotrasplante bilateral del riñón en herradura en este caso.

la inserción alta y la angulación de la unión pieloureteral, entre otras causas, no pueden ser corregidas mediante la sinfisiotomía del istmo o por la nefrectomía parcial, ya que mientras no se corrija la anómala orientación del riñón persistirán las causas relacionadas con el trastorno morfológico renal.

Otro problema para la aplicación de las técnicas convencionales al riñón anómalo radica en la extensión de la malformación de su vía excretora por encima, por debajo o a nivel de la unión pelo-ureteral que, frecuentemente, sobrepasan los 5 ó 6 centímetros de extensión y que están representadas por lesiones de tipo estructural como la aplasia o hipoplasia segmentaria de la muscular, fibrosis parietal, sustitución de las fibras musculares por hipertrofia del tejido colágeno. Estas alteraciones estructurales que han sido observadas (11) en grado y extensión variable en el riñón hidronefrótico no malformado, y que hemos podido constatar en el estudio histopatológico en seis pacientes de esta serie, pueden representar un obstáculo al relleno fisiológico del cono ureteral y a la normal urodinámica y

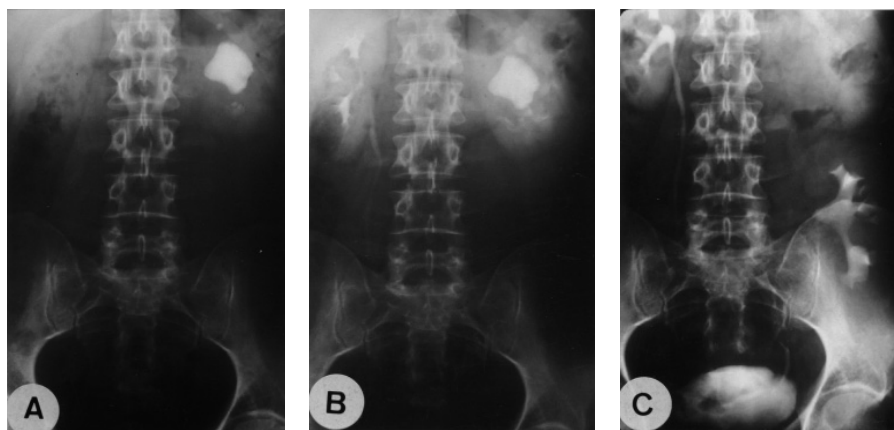


FIG. 11. (Ob. 8). Ejemplo de uno de los 5 casos de mal rotación renal. **A**, Radiografía preoperatoria. Gran cálculo píélico y litiasis calcilar múltiple y recurrente. **B**, UIV pielocaliectasia y retardo funcional. **C**, Autotrasplante. Total recuperación de la orientación anatómica del riñón y de la morfología de sus cálices.

son el punto de partida de la evolución hacia la hidronefrosis y a la litiasis de órgano. En tres pacientes no se encontró obstrucción a nivel de la unión, en el sentido de que el calibre era normal o estaba aumentado, sin que se observaran al microscopio importantes lesiones estructurales, o son muy parecidas a las que se observan en las hidronefrosis congénitas, constituidas por una acalasia muscular; con sobrecarga hídrica, observamos una falta de coordinación peristáltica entre la pelvis y el uréter. Son estenosis funcionales que obstaculizan el tránsito pieloureteral. Estas lesiones pueden ser reconocibles por el estudio histológico aunque no siempre.

Las ureteropieloplastias convencionales no resuelven el problema por la razón de que estas lesiones son muy extensas y, después de una amplia recesión, no queda uréter suficientemente disponible (uréter corto) para una anastómosis sin tensión; además, el riñón no es movilizable por sus múltiples amarras vasculares. Las anomalías renales complicadas, sobre todo si ya fueron intervenidas, requieren una táctica y una técnica quirúrgicas distintas. Hay que practicar una cirugía que corrija simultáneamente la patología propia de la anomalía renal y la patología de sus vías excretora, es decir, que elimine la sínfisis, libere las estructuras nerviosas y vasculares prevertebrales, proporcione una normal orientación anatómica, que permita la amplia resección segmentaria de la unión pieloureteral, facilite un normal drenaje urinario y con conservación de todo el parénquima

renal. Estos objetivos se han conseguido gracias a la cirugía extracorpórea, a la microcirugía y al autotrasplante.

Aunque puede parecer una acrobacia quirúrgica extender esta indicación a un riñón anómalo, que no solamente presenta una morfología trastornada, sino también una malformación de sus vías excretoras y de sus vasos en la práctica no ha habido grandes dificultades técnicas o éstas fueron siempre resueltas. No hay que olvidar que la cirugía «ex vivo» proporciona al cirujano unas condiciones de trabajo que jamás soñó alcanzar. El riñón en constante hipotermia controlada durante horas no experimenta alteración en su función. Aunque son operaciones largas, no son traumáticas, ya que mientras se opera el riñón en el banco de trabajo, en otro quirófano el paciente se halla bajo anestesia muy superficial hasta el momento en que recibirá el órgano reparado.

Los resultados en 13 casos son sorprendentemente satisfactorios y el único fracaso debe atribuirse a una dudosa indicación quirúrgica que debió ser de entrada la nefrectomía. Los resultados de esta serie a largo plazo autorizan a afirmar que la cirugía «ex vivo» y el autotrasplante representan una nueva solución quirúrgica para resolver la gran problemática de las anomalías renales y en las que la cirugía convencional conservadora fracasó o es imposible. Esta nueva y original cirugía no significa que deba ser sistemática en todas las anomalías. Cuando una hidronefrosis o una litiasis complica tardíamente y por vez primera a una anomalía, puede recurrirse a las intervenciones convencionales. Pero cuando las complicaciones son importantes y aparecen tempranamente o el otro riñón no es normal, entonces esta cirugía está plenamente justificada.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABESHOUSE, B.S.: Surgery of the congenital anomalous kidney. *Surg. Gyn. Obst.*, 78, 288, 1944.
2. GUTIÉRREZ, R.: The clinical management of horseshoe kidney. New York, Paul B. Holber. Inc. 1934.
3. MACQUET, P.; WEMEAU, L.: Chirurgie du rein en fer à cheval. Masson edit., Paris, 1952.
4. MARION, H.: Un cas de rein ectopique pelvien. *J. d'Urol.* 52, 42, 1943.
5. GIL-VERNET, J. M.^a: Human renal homotransplantation. New surgical technique. *Urol. Inter*, 23: 201, 1968.
6. GIL-VERNET, J. M.^a et al.: Autotrasplantation du rein pour hypertension artérielle de cause vasculaire. Ac. Asoc. Française d'Urol. LXIII Congr., 467, 1969.

7. GIL-VERNET, J. M.^a; CARALPS, A.; REVERT, L.; ANDREU, J.; CARRETERO, P. and FIGULS, J.: Extracorporeal renal Surgery. Work Bench Surgery. *Urology* 4, 444, 1975.
8. GIL-VERNET, J. M.^a: New surgical approach to complicated renal anomalies. *J. Urol.* 128, 10, 1982.
9. GIL-VERNET, J. M.^a: Advances in intraoperative renal radiography 3- Dimensional radiography of the kidney. *J. Urol.* 125: 614, 1981.
10. GIL-VERNET, J. M.^a: New surgical concepts in removing renal calculi. *Urol. Int.*, 20: 255; 1965.
11. CARBONE, G.; GIULIANI, L.; ROCCA ROSSETTI, S.: Fisiopatología e Clinica delle lesioni proprie del giunto pielo-ureterale. Acta XLVI Congr. Ital. Urol. 1973.

**MORFOGÉNESIS Y ANATOMÍA CLÍNICA DE LAS
FISURAS PETROTIMPÁNICA Y PETROESCAMOSA**

***MORPHOGENESIS AND CLINICAL ANATOMY
OF THE PETROTYMPANIC AND PETROSQUAMOSAL
FISSURE***

Por el Ilmo. Sr. D. JOSÉ F. RODRÍGUEZ VÁZQUEZ

Académico Correspondiente

Resumen

Las fisuras petrotimpánica y petroescamosa se localizan en el hueso temporal, en una compleja área de la base del cráneo estrechamente relacionada con el desarrollo evolutivo de los mamíferos. Sin embargo, hasta ahora no disponíamos de unas descripciones comprensivas de como se realizaba la formación de estas fisuras. Recientes investigaciones nos han permitido determinar los factores que intervienen en su desarrollo, y en consecuencia como se efectúa el cierre del oído medio y su separación de la articulación témporomandibular. Los mecanismos y estructuras que intervienen en su morfogénesis, determinan la variabilidad y las implicaciones anatomoclínicas.

Abstract

Petrotympanic and petrosquamosal fissures are located in the temporal bone, in a complex area of the base of the skull, closely related to the evolutionary development of mammals. However, until now we do not have a comprehensive descriptions about how the formation of these fissures were formed. Recent researches have allowed us to determine the factors involved in their development, and consequently how the closure of the middle takes place and its separation of the temporomandibular joint. The mechanisms and structures involved in their morphogenesis determine the variability and anatomoclinical implications.

Una de las áreas más enigmáticas del cuerpo humano, corresponde a las fisuras petrotimpánica y petroescamosa. Se encuentran localizadas en una compleja área de la base del cráneo perteneciente al hueso temporal. La interposición de una pequeña lámina ósea, conocida como prolongación inferior del tegmen tympani de Grüber o lamina petrosa descendente de Mouret, crista tegmentalis, determina la peculiaridad anatómica de esta especial disposición fisural (Fig. 1).

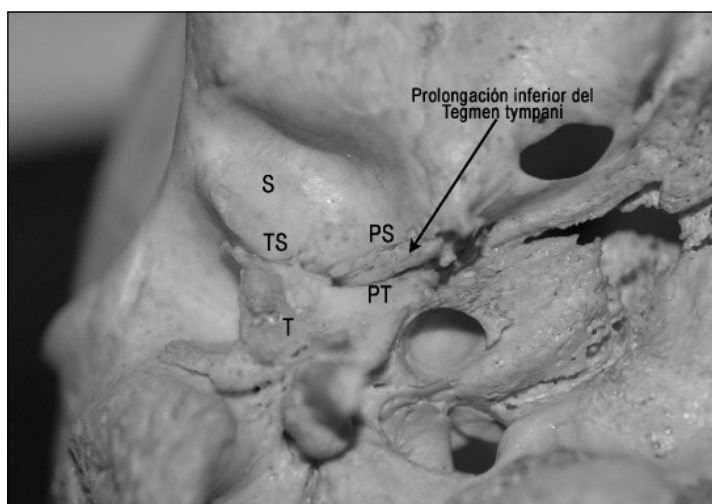


FIG. 1. Visión de la base del cráneo (norma basal), en la que aprecia la prolongación inferior del tegmen tympani y las porciones escamosa del temporal a nivel de la fosa mandibular (S) y el hueso timpánico (T). Se observan claramente las fisuras timpanoescamosa (TS), petroescamosa (PS) y petrotimpánica (PT).

El presente estudio, no solamente pretende explicar el proceso y los factores que determinan la formación de las fisuras petrotimpánica y petroescamosa en el hombre, sino también la relación que tiene con los procesos evolutivos de otros mamíferos, y finalmente incidir en su importancia anatomoclínica.

Aunque han sido analizadas y son bien conocidos los elementos que relacionan el oído medio y la articulación témporomandibular, tanto en el feto humano (Rodríguez-Vázquez y cols. 1993) como en el hombre adulto (Harpman y Woollard, 1938; Symons, 1952; Moffett, 1957; Coleman, 1970; Smeele, 1988; Rodríguez-Vázquez y

cols., 1991, 1992, 1993), no así en cambio, el desarrollo y los mecanismos implicados en la transformación de la fisura timpanoescamosa y la constitución de la fisura petrotimpanica.

La formación de estas fisuras está relacionada con el cierre del oído medio en el hombre. Recientemente Rodríguez-Vázquez y cols., 2011a, han desarrollado la hipótesis de cómo se efectúa el cierre del oído medio, y su separación de la articulación témporomandibular, y que va a determinar la formación de las fisuras petrotimpanica y petroescamosa, siendo el tegmen tympani, uno de los elementos fundamentales en esa separación. El desarrollo de estas fisuras permite comprender la morfología y su variabilidad en el adulto, y en consecuencia la anatomía clínica de la misma.

MORFOGÉNESIS DE LAS FISURAS PETROTIMPÁNICA Y PETROESCAMOSA.

En el desarrollo de este complejo fisurario, Rodríguez-Vázquez y cols., 2011a, han señalado las siguientes etapas:

1. En la etapa inicial, la porción escamosa del hueso temporal y el hueso timpánico delimitaban claramente la fisura timpanoescamosa. Por ella pasaban entre otros elementos el cartílago de Meckel, muy grueso en estos estadios, y el nervio cuerda del tímpano.

2. En la segunda etapa, aparecía el anlage cartilaginoso del tegmen tympani (Fig. 2) que posteriormente establecía

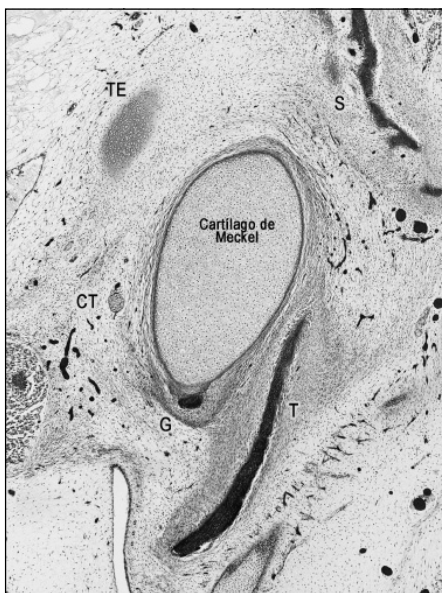


FIG. 2. Morfogénesis. Sección frontal de un feto humano de 11 semanas de desarrollo. La fisura timpanoescamosa está delimitada entre la porción escamosa del temporal (S) y el hueso timpánico (T). Nervio cuerda del tímpano (CT). Hueso goniale (G). Esbozo del tegmen tympani del peñasco temporal (TE).

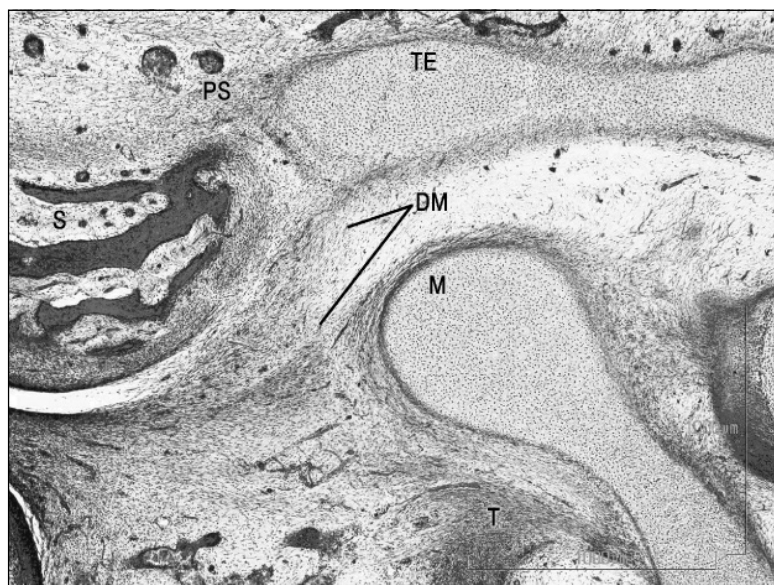


FIG. 3. Morfogénesis. Sección sagital de un feto humano de 12 semanas de desarrollo. Constitución de la fisura petroescamosa (PS), entre el tegmen tympani (TE) y la porción escamosa del temporal (S). El ligamento discomaleolar (DM) alcanza el tegmen tympani (TE) pasando por la fisura timpanoescamosa, delimitada entre la porción escamosa del temporal (S) y el hueso timpánico (T), por ella también se introduce en el oído medio el cartílago de Meckel (M).

conexión con la cápsula ótica y se delimitaba la fisura petroescamosa (Fig. 3).

3. La tercera etapa estaba caracterizada por el rápido crecimiento del proceso inferior del tegmen tympani (Fig. 4). El crecimiento y el descenso del cartílago del proceso inferior del tegmen tympani, reducía la parte medial de la fisura timpanoescamosa.

4. En la fase final, fue observado como el cartílago de Meckel regresaba para formar el ligamento esfenomandibular y ligamento anterior del martillo (Rodríguez-Vázquez, 1992) (Fig. 5). Además la parte medial de la fisura estaba cerrada por el proceso descendente del tegmen tímpano. Por tanto, la formación de la fisura petroescamosa era seguida por la formación de la fisura petrotimpánica.

Existían una serie de factores que determinaban la formación de las fisuras petrotimpánica y petroescamosa, y que no habían sido descritos con anterioridad. Fue observado (Rodríguez-Vázquez y cols., 2011a), como en las etapas previamente analizadas, existía

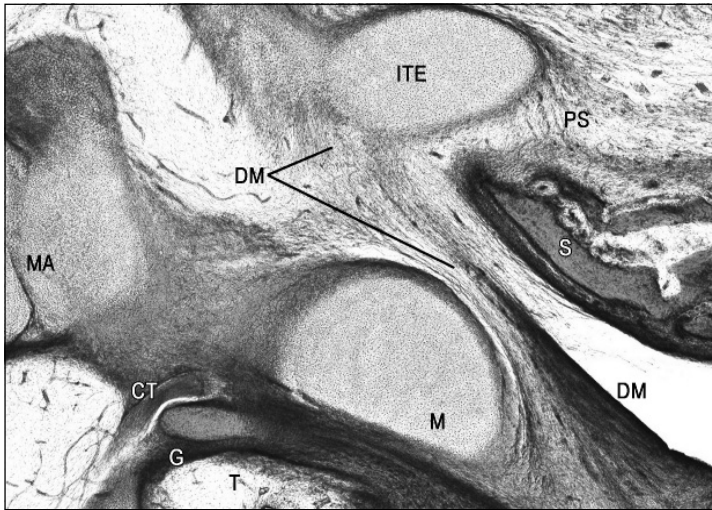


FIG. 4. Morfogénesis. Sección sagital de un feto humano de 13 semanas de desarrollo. Crecimiento caudal del tegmen tympani para formar la prolongación inferior (ITE), donde se fija una parte del ligamento discomaleolar (DM). Fisura petroescamosa (PS). Nervio cuerda del tímpano (CT). Hueso goniale (G). Cartílago de Meckel (M). Martillo (MA). Hueso timpánico (T).

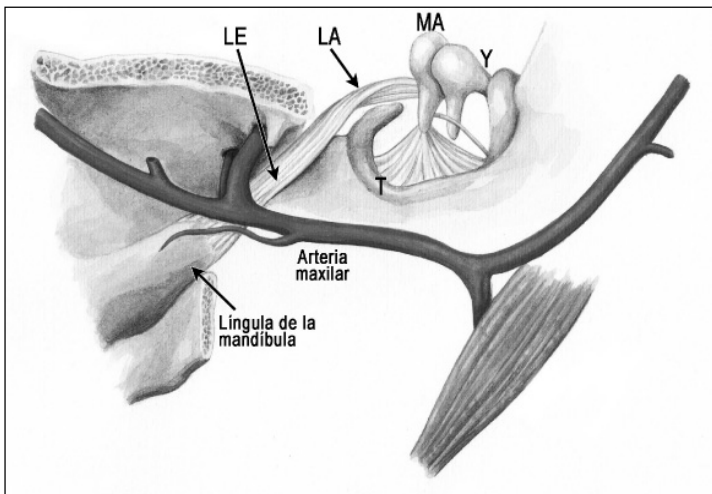


FIG. 5. Dibujo en visión medial del ligamento esfenomandibular en un feto humano de 25 semanas de desarrollo. Se ha resecado el ramo de la mandíbula y se observa la continuidad del ligamento esfenomandibular (LE) con el ligamento anterior del martillo (LA) a través de la fisura petrotimpánica, de la que solamente se ha representado su límite inferior. Hueso timpánico (T). Martillo (MA). Yunque (Y).

un crecimiento específico del proceso inferior del tegmen tympani, que se mantenía como cartílago, sin presentar ningún signo de osificación (Fig. 4).

Aunque, el elemento o factor más importante en el descenso del tegmen tympani era el ligamento discomaleolar (Rodríguez-Vázquez y cols., 2011a). En particular, el fascículo del ligamento discomaleolar que desde la parte antero-inferior del tímpano alcanzaba con las otras partes del ligamento el disco de la articulación témporomandibular. Señalaron como hipótesis que la tracción del ligamento discomaleolar evitaba la osificación y aceleraba un proceso de descenso del proceso inferior del tegmen tympani (Figs. 3 y 4).

El ligamento discomaleolar tenía una forma triangular con su base hacia el disco y con su vértice en el martillo (Rodríguez-Vázquez y cols., 1993). Este ligamento entraba en el oído medio a través de la parte lateral de la fisura petrotimpánica, aunque las fibras más laterales de este ligamento lo hacían por la parte más medial de la fisura timpanoescamosa (Rodríguez-Vázquez y cols. 1998; Kim y cols., 2004). El ligamento discomaleolar en el feto era el factor más probable para la transferencia de la tensión mecánica del disco y cóndilo en desarrollo. En nuestra opinión, el ligamento discomaleolar, y específicamente las fibras que alcanzan el tegmen tympani podrían actuar como un mecanismo de tracción para que se produzca el descenso de esta parte del tegmen tympani que formará la prolongación inferior del tegmen tympani (Fig. 4). Se ha demostrado que los movimientos son importantes en la organización de las estructuras de la articulación témporomandibular, la influencia del músculo pterigoideo lateral (Petrovic, 1972; Strutzmann y Petrovic, 1974; Perry y cols., 1985; Sperber, 1989; Hinton, 1990; Ben-Ami y cols., 1993; Takahashi, 1991; Takahashi y cols., 1995;), así como la inserción durante el periodo fetal de fascículos de la cabeza superior del músculo pterigoideo lateral en el cóndilo y dos tercios anterointernos del disco articular (Mérida-Velasco y cols., 1999). En consecuencia los movimientos del disco y su desplazamiento podrían provocar la tracción del tegmen tympani a través de las fibras del ligamento discomaleolar que se fijan en el.

Aunque el cierre de la fisura timpanoescamosa en su parte medial no solamente se produciría por el descenso de la prolongación inferior del tegmen tympani arrastrada por la tracción de las fibras del ligamento discomaleolar que se insertan en ella, sino también por otro factor importante como es la transformación del cartílago de Meckel

en los ligamento esfenomandibular y anterior del martillo (Figs. 4 y 5). El impedimento que suponían estos elementos para su descenso ya no existiría, y en consecuencia la prolongación inferior del tegmen tympani podría interponerse entre la escama del temporal y el hueso timpánico, y formar la fisura petrotimpánica a las 25 semanas de desarrollo. Por ella pasarán el nervio cuerda del tímpano, y el ligamento esfenomandibular y su continuidad con el ligamento anterior del martillo (Rodríguez-Vázquez y cols., 1992) (Fig. 5).

RELACIÓN CON EL DESARROLLO EVOLUTIVO DE OTROS MAMÍFEROS

El proceso descrito se relaciona con uno de los temas centrales de la biología evolutiva de los mamíferos, ya que el oído medio representa una de las características morfológicas fundamentales para definir esta clase de vertebrados. El origen evolutivo del oído, y su homología se ha considerado como uno de los enigmas más formidables de la morfología comparada, habiendo atraído la atención de zoólogos y estudiosos de la anatomía comparada de los últimos 200 años. Esta homología está basada en la transferencia de elementos accesorios de la mandíbula (angular y articular) más el cuadrado, como huesos estrictamente del oído medio, renombrados como timpánico, martillo y yunque (Allin, 1975). La transferencia permitiría la transición de una articulación cuadrado-articular de tipo reptiliano (articulación primaria de la mandíbula), a la articulación escamoso-dentaria de los mamíferos (Shute, 1956; Allin, 1975). La fisura tímpanoescamosa habría permitido esta transición articular en el desarrollo humano (Rodríguez-Vázquez y cols., 2011a). Era conocido que los primeros movimientos reflejo de la apertura de la boca se realizaban a las 8-9 semanas de edad gestacional (Humphrey, 1968) y también que, en esta etapa del desarrollo, la articulación temporomandibular no estaba constituida (Mérida-Velasco y cols., 1999), aunque en realidad había una articulación entre el segmento dorsal del cartílago de Meckel, que dará lugar al martillo (Rodríguez-Vázquez y cols., 1991) y el yunque. Por tanto, los movimientos en esta fase del desarrollo humano deberían realizarse en esta articulación, que correspondería a la articulación de la mandíbula primaria (Mérida-Velasco y cols., 1990). Wang y cols., 2001, observaron evidencias de esta transición en los fósiles de los primeros mamífe-

ros del Cretáceo, al identificar un cartílago de Meckel osificado que se relacionaba con el oído medio. Estos autores sugirieron que su función podría ser el movimiento de la mandíbula. Esta disposición del cartílago de Meckel y su relación con la mandíbula podría ser equivalente a la observada en los fetos humanos por Rodríguez-Vázquez y cols. 1997, 2011b.

Por tanto, el cierre del oído medio sería la última fase de esta transición articular, que separaría la articulación témporomandibular del oído medio. Al entrar en función la articulación témporomandibular, el ligamento discomalleolar, a través de su fijación en el tegmen tympani, terminaría por cerrar el oído medio (Rodríguez Vázquez y cols. 2011a).

En el desarrollo ontogénico del embrión humano es posible comprender y observar los cambios que determinan el cierre del oído medio y la consecución de una arquitectura ósea capaz de percibir las ondas sonoras, siendo la fisura timpanoescamosa la puerta de entrada que permite la transferencia de los elementos accesorios de la mandíbula.

ANATOMÍA CLÍNICA

En nuestra opinión el mayor o menor descenso del tegmen tympani durante el desarrollo, determina la morfología de las fisuras petrotimpánica y petroescamosa en el adulto. Las variaciones de la fisura petrotimpánica que han sido señaladas (Eckerdal, 1991; Schickinger y cols., 1998; Koesling y cols., 2005; Sato y cols., 2008; Anagnostopoulou y cols., 2008), consideramos que están en relación directa con el grado del descenso del proceso inferior del tegmen tympani. Por tanto, menos descenso daría lugar a una fisura petrotimpánica más amplia (Fig. 6), lo que facilitaría el paso no solamente del ligamento discomalleolar, sino también del ligamento esfenomandibular y su extensión o continuidad con el ligamento anterior del martillo (Fig. 5), y en consecuencia la transmisión de la fuerza de la articulación témporomandibular al oído medio. Esto podría explicar la presencia síntomas auditivos en el síndrome de disfunción de la articulación témporomandibular (Kim y cols., 2004; Sato y cols. 2008; Anagnostopoulou y cols. 2008; Sencimen y cols., 2008), o la posibles complicaciones durante la artroscopia de la misma (Schickinger y cols., 1998).

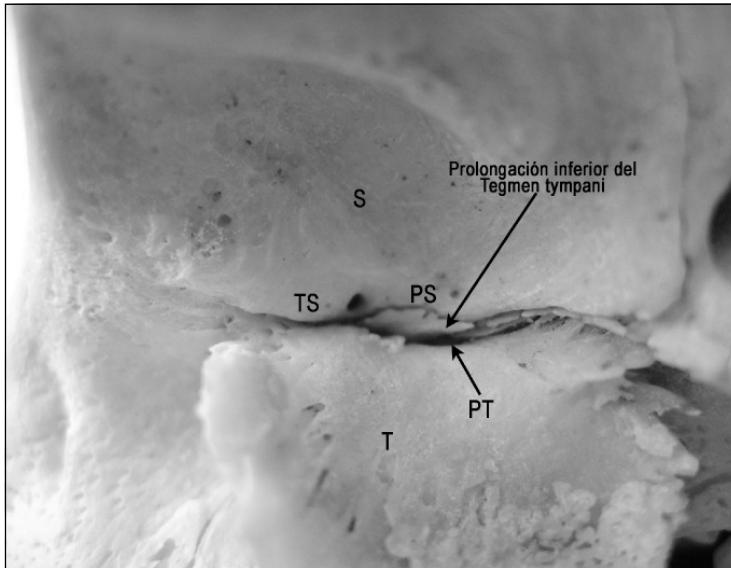


FIG. 6. Visión de la base del cráneo (norma basal). La prolongación inferior del tegmen tympani no ha descendido totalmente (compárese con la Fig.1) y en consecuencia la fisura petrotimpánica (PT) se encuentra abierta. Porción escamosa de la escama del temporal (fosa mandibular) (S). Hueso timpánico T. Fisuras timpanoescamosa (TS) y petroescamosa (PS).

La variabilidad de las fisuras, no se podría entender sin la interrelación de todos los procesos que hemos expuesto.

Por todo ello consideramos que, las fisuras petrotimpanica y petroescamosa son el resultado final del necesario cierre del oído medio en el hombre, y su formación representaría la ultima etapa de las adaptaciones experimentadas en los mamíferos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALLIN, E.F. (1975). Evolution of the mammalian middle ear. *J. Morphol.* 147: 403-438.
- ANAGNOSTOPOULOU, S.; VENIERATOS, D.; ANTONOPOULOU, M. (2008). Temporo-mandibular joint and correlated fissures: anatomical and clinical consideration. *Cranio.* 26: 88-95.
- BEN-AMI, Y.; MARK, K.; FRANZEN, A.; BERNARD, B.; LUNAZZI, G.C.; SILBERMANN, M. (1993). Transformation of fetal secondary cartilage into embryonic bone in organ cultures of human mandibular condyles. *Cell. Tissue. Res.* 271: 317-322.

- COLEMAN, R.D. (1970). Temporomandibular joint: relation of the retrodiskal zone to Meckel's cartilage and lateral pterygoid muscle. *J. Dent. Res.* 49: 626-630.
- ECKERDAL, O. (1991). The petrotympanic fssure: a link connecting the tympanic cavity and the temporomandibular joint. *J. Craniomandib. Pract.* 9:15-22.
- HARPMAN, J.A.; WOOLLARD, H.H. (1938). The tendon of the lateral pterygoid muscle. *J. Anat.* 73: 112-115.
- HINTON, E.J. (1990). Myotomy of the lateral pterygoid muscle and condylar cartilage growth. *Eur. J. Orthod.* 12: 310-379.
- KJELLBERG, K. (1904). Beiträge zur entwicklungsgeschichte des kiefergelenks. *Gegenbaurs Morph. Jahrb.* 32:159-184.
- KIM, H.J.; JUNG, H.S.; KAKI, H.H.; SHIM, K.S.; HU, K.S.; PARK, H.D., PARK, H.W.; CHUNG, I.H. (2004). The discomalleolar ligament and the anterior ligament of malleus: an anatomic study in human adults and fetuses. *Surg. Radiol. Anat.* 26:39-45.
- KOESLING, S.; KUNKEL, P.; SCHUL, T. (2005). Vascular anomalies, sutures and small canals of the temporal bone on axial CT. *Eur. J. Radiol.* 54: 335-43.
- MÉRIDA-VELASCO, J.R.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; JIMÉNEZ-COLLADO, J. (1990). Meckelian articular complex. *Eur. Arch. Biol.* 101: 447-453.
- MÉRIDA-VELASCO, J.R.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; MÉRIDA-VELASCO, J.A.; SÁNCHEZ-MONTESINOS, I.; ESPÍN-FERRA, J.; JIMÉNEZ-COLLADO, J. (1999). Development of the human temporomandibular joint. *Anat. Rec.* 255: 20-33.
- MOFFETT, B.C. (1957). The prenatal development of the human temporomandibular joint. *Contributions to Embryology.* 36. 21-28.
- PATURET, G. (1951). *Traité d'Anatomie Humaine* .vol.1. Paris: Masson.
- PERRY, H.T., XU, Y.; FORBES, D.P. (1985). The embryology of the temporomandibular joint. *Cranio.* 3:125-132.
- PETROVIC, A.G. (1972). Mechanisms and regulation of mandibular condylar growth. *Acta Morphol. Neerl-Scand.* 10,:25-34.
- RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; MÉRIDA-VELASCO, J.R.; JIMÉNEZ-COLLADO, J. (1991). A study of the os goniale in man. *Acta Anat.* 142:188-192.
- RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; MÉRIDA-VELASCO, J.R.; JIMÉNEZ-COLLADO, J. (1992). Development of the human sphenomandibular ligament. *Anat. Rec.* 233: 453-460.
- RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; MÉRIDA-VELASCO, J.R.; JIMÉNEZ-COLLADO, J. (1993). Relationships between the temporomandibular joint and the middle ear in human fetuses. *J. Dent. Res.* 72:62-66.
- RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; MÉRIDA-VELASCO, J.R.; MÉRIDA-VELASCO, J.A.; SÁNCHEZ-MONTESINOS, I.; ESPÍN-FERRA, J.; JIMÉNEZ-COLLADO, J. (1997). Developmental Meckel's cartilage in the symphyseal region in man. *Anat. Rec.* 249: 249-254.
- RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; MÉRIDA-VELASCO, J.R.; MÉRIDA-VELASCO, J.A., JIMÉNEZ-COLLADO, J. (1998). Anatomical considerations on the discomalleolar ligament. *J. Anat.* 192: 617-621.
- RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; MURAKAMI, G.; VERDUGO-LÓPEZ, S.; ABE, S.; FUJIMIYA, M. (2011a). Closure of the middle ear with special referente to the development of the tegmen tympani of the temporal bone. *J.Anat.* 218:690-698.

- RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, J.F.; VERDUGO-LÓPEZ, S.; MURAKAMI, G. (2011b). Venous drainage from the developing human base of mandible including Meckel's cartilage: the so-called Serre's vein revisited. *Surg.Radiol.Anat.* 33:575-581.
- SATO, I.; ARAI, H.; ASAUMI, R.; IMURA, K.; KAWAI, T.; YOSUE, T. (2008). Classifications of tunnel-like structure of human petrotympanic fissure by cone beam CT. *Surg. Radiol. Anat.* 30:323-326.
- SCHICKINGER, B.; GSTOETTNER, W.; CERNY, C.; KORNFEHL, J. (1998). Variant petrotympanic fissure as possible cause of an otologic complication during TMJ arthroscopy. A case report. *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 27:17-19.
- SENCIMEN, M.; VAROL, A.; BAYKAL, B.; ALTUG, H.A.; DOGAN, N.; SAHIN, S.; OKCU, K.M.; YALCIN, B. (2009). Histological characteristics of ligaments between middle ear and temporomandibular Joint. *Eur. J. Dent.* 3: 280-284.
- SHUTE, C.C.D. (1956). The evolution of the mammalian eardrum and tympanic cavity. *J.Anat.* 90: 261-281.
- SMEELE, L.E. (1988). Ontogeny of relationship of human middle ear and temporomandibular (squomomandibular) joint. I. Morphology and ontogeny in man. *Acta Anat.* 131: 338-341.
- SPERBER, G.H. (1989). *Craniofacial Embryology*, 4th edn, pp 192-204. Cambridge:Wright.
- STRUTZMANN, J.; PETROVIC, A.G. (1974). Effects of the resection of the external pterygoid muscle of the growth of the condylar cartilage in the young rat. *Bull.Assoc. Anat.* 58: 1107-1114.
- SYMONS, N.B.B. (1952). The development of the human mandibular joint. *J. Anat.* 86: 326-333.
- TAKAHASHI, I. (1991). A histological study of the effect of the lateral pterygoid muscle activity on the growth of rat mandibular condylar cartilage. *Jpn. J. Orthod. Soc.* 50: 368-382.
- TAKAHASHI, I.; MIZOGUCHI, I.; NAKAMURA, M.; KAGAYAMA, M.; MITAMI, H. (1995). Effects of lateral pterygoid muscle hiperactivity on differentiation of mandibular condyles in rats. *Anat.Rec.* 241: 328-336.
- TÓTH, M.; MOSER, G.; PATONAY, L.; OLÁH, I. (2006). Development of the anterior chordal canal. *Ann. Anat.* 188:7-11.
- WANG, Y.; HU, Y.; MENG, J.; LI, C. (2001). An ossified Meckel's cartilage in two Cretaceous mammals and origin of the mammalian middle ear. *Science.* 294: 57-361.

INTERVENCIÓN DEL PROF. LUCAS TOMÁS

El Dr. Rodríguez Vázquez nos tiene acostumbrados a presentarnos trabajos de investigación sobre el área del cuello, arcos branquiales, maxilares, apófisis estiloides, Articulación Temporo Maxilar (A.T.M.), base del cráneo, etc.

Yo pensaba que el Dr. Rodríguez Vázquez había agotado sus conocimientos y sus investigaciones en esta área, a la vez tan pequeña, compleja, y, como él ha dicho, tan enigmática.

El Dr. Rodríguez Vázquez ha hecho una sorprendente y exhaustiva descripción de las fisuras petroescamosa y petrotimpática en la base del cráneo, así como el apoyo demostrativo de su existencia en varias etapas morfogénicas.

En un momento dado ha citado el ligamento esfenomandibular y su relación con el oído medio. Yo había oído hablar de este extremo pero nunca había podido verlo, a pesar de mi interés y mi proximidad por los anatómicos de esta zona y concretamente del equipo humano que forma la escuela de Jiménez Collado, Rodríguez Vázquez, Mérida, etc.

Lo que no había oído nunca era la presencia del ligamento discomaleolar y que su acción está relacionada con la movilidad del cartílago articular de la A.T.M.; realmente sorprendente por inesperado.

Todo esto me permite hacerle tres preguntas concretas, relacionadas con la clínica, puesto que mi área de acción es médico-quirúrgica y no de investigación anatómica:

Primera: ¿Corresponde la aparición de acúfenos a la presencia del ligamento esfenomandibular que usted ha descrito?

Segunda: Nuestra amada y compleja articulación temporomandibular, para el Dr. Rodríguez Vázquez y para mi, ha estado siempre relacionada con el sistema neuromuscular de las grandes estructuras musculares y ligamentosas aproximadoras y separadoras de la mandíbula. Así teníamos acordado que la causa del dolor, acufenos y otros síntomas múltiples del síndrome dolor-disfunción articular provenían de estas estructuras. Hoy el Dr. Rodríguez Vázquez me hace pensar que el dolor articular está basado en la presencia y función del disco maleolar, por él descrito.

¿Sería una suerte haber llegado a la solución de la etiopatogenia del Síndrome de Costen?

Tercera: En mis años mozos de la Clínica de la Concepción me dediqué a hacer artroscopia en la A.T.M. Las complicaciones derivadas de ella y los resultados clínicos y radiográficos obtenidos nos desanimaron a seguir investigando en esta técnica. ¿Tendrá que ver con ello la presencia o no de nuestras enigmáticas fisuras craneales?.

Dr. Rodríguez Vázquez, le estimo que siga investigando sobre esta área anatómica común con la brillantez con que lo está haciendo.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Muchas gracias a los los Señores Académicos que han intervenido en el día de hoy, al Prof. Rodríguez Vázquez por la magnífica exposición que nos ha hecho, por sus aportaciones en la Anatomía tan interesantes y en publicaciones importantes. Sobre todo como decía su maestro, haciendo referencia a aspectos que no están descritos previamente y desde luego lo que uno saca la conclusión sin ser un experto para nada en esta materia, pero por lo que escucha a los expertos que están hoy sentados en esta mesa presidencial, es que evidentemente esta articulación temporomaxilar y el oído medio crea una enorme cantidad de problemas clínicos que unas veces están correlacionados con la anatomía, aunque otras no, pero que si es verdad que aunque forman parte de dos especialidades diferentes sin embargo convergen en la patología y en los problemas que los pacientes sienten y que muchas veces los pacientes van a un otorrino, van a un cirujano maxilofacial, vuelven a uno, vuelven a otro, hasta que acaba en manos de especialistas muy expertos que son capaces de identificar lo que les pasa con independencia de las conexiones que puedan existir y que la patología además pueda estar referida a las dos partes de las dos especialidades. De manera que enhorabuena, felicitarle y además animarle a que siga con estas investigaciones, como decía el Prof. Lucas que nos va sorprendiendo siempre con las aportaciones que nos hace con estas imágenes tan bellas.

Al Prof. Gil-Vernet por supuesto felicitarle, como no, por la magnífica exposición que nos ha hecho y sobre todo por rememorarnos algo que tuvo una gran impacto e importancia en su momento y que fue una gran revolución dentro del mundo de la cirugía, sobre todo la cirugía que él hacía. Nada menos que coger un riñón, sacarlo, sentarse en una mesa y reparar ese riñón y volverlo a poner. Esto que hoy parece algo muy normal en la cirugía moderna, sin embargo en el año, me parece que ha dicho el Prof. Moreno en el año en 1974 ó 1975, era realmente una aportación tremendamente relevante y como él ha dicho también la primera vez que se comunicó en la literatura mundial. Hablar de las excelencias técnicas del Prof. Gil-Vernet sería absolutamente impropio y simplemente también felicitarle por esta gran aportación que nos ha hecho en el día de hoy y que rememora como digo algo que fue impactante y que forma parte hoy de la historia de la urología. Muchísimas gracias a todos ustedes. Se levanta la Sesión.

SUMARIO

	<i>Páginas</i>
XIII SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 17 DE MAYO DE 2011	
«Efecto del pretratamiento con melatonina en la lesión oxidativa e inflamatoria causada por isquemia/repercusión hepática en ratas Zucker, por el Excmo. Sr. D. Jesús A. Fernández-Tresguerres Hernández	391
Intervenciones:	
Del Prof. Seoane Prado	415
Del Prof. García-Sancho Martín	416
Del Prof. Blázquez	416
XIV SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 24 DE MAYO DE 2011	
«El remodelado eléctrico en la fibrilación auricular: diferencias inter-auriculares», por el Excmo. Sr. D. Juan Tamargo Menéndez	419
Intervenciones:	
Del Prof. Seoane Prado	434
Del Prof. Berrazueta	435
XV SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 31 DE MAYO DE 2011	
«Rodríguez Lafora y la Academia», por el Excmo. Sr. D. Luis Sánchez Granjel	439
Intervención del Prof. Santiago Martínez-Fornés	452
«Células tumorales circulantes (CTC): un nuevo marcador de eficacia en el tratamiento quimioterápico del cáncer colorrectal metastásico», por el Excmo. Sr. D. Eduardo Díaz-Rubio García	455
Intervenciones:	
Del Prof. Félix Pérez Pérez	469
Del Prof. Seoane Prado	470
Del Prof. García-Sancho	470
Del Prof. Blázquez	470
Del Prof. García Sagredo	471
Del Prof. Óscar Valtueña Borque	471
Del Prof. Julio Mayol	472
XVI SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 14 DE JUNIO DE 2011	
«La vitamina D. ¿Un fármaco maravilloso?», por el Excmo. Sr. D. Enrique Casado de Frías	479
Intervenciones:	
Del Prof. Seoane Prado	493

	<i>Páginas</i>
Del Prof. Pérez Pérez	494
Del Prof. Vila Rubia	494
Del Prof. Enrique Blázquez Fernández	494
Del Prof. Alonso Fernández	495
Del Prof. Óscar Valtueña	496
«La reutilización de aguas residuales», por el Excmo. Sr. D. Francisco González de Posada	497
Intervenciones:	
De la Prof. ^a San Martín Bacaicoa	518
Del Prof. Guillermo Suárez Fernández	519
SOLEMNE SESIÓN DE ENTREGA DE TÍTULOS Y MEDALLAS DE ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES.—DÍA 21 DE JUNIO DE 2011	
Palabras de bienvenida a los nuevos Académicos Correspondientes, por el Excmo. Sr. D. Manuel Escudero Fernández	524
Palabras en nombre de los nuevos Académicos Correspondientes, por el Ilmo. Sr. D. Javier Sanz Serrulla	530
Palabras finales del Sr. Presidente, Excmo. Sr. D. Manuel Díaz-Rubio García	533
XVII SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 4 DE OCTUBRE DE 2011	
«Nueva cirugía de las anomalías renales complicadas», por el Excmo. Sr. D. José María Gil-Vernet Vila	539
«Morfogénesis y anatomía clínica de las fisuras petrotimpánica y petro- escamosa», por el Ilmo. Sr. D. José F. Rodríguez Vázquez	555
Intervención del Prof. Lucas Tomás	565



Administración:

Real Academia Nacional de Medicina

Calle Arrieta, 12 - 28013 Madrid

España



MINISTERIO
DE EDUCACIÓN

www: ranm.es
e-mail: secretaria@ranm.es
biblioteca@ranm.es